

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

## ÉTUDES EXPÉRIMENTALES

### SUR LES PIROPLASMOSES BOVINES D'ALGÉRIE (1)

par

EDM. SERGENT, A. DONATIEN, L. PARROT, F. LESTOQUARD,  
EDM. PLANTUREUX, H. ROUGEBIEF.

De l'avis unanime des vétérinaires et des colons algériens, les maladies du bœuf désignées sous l'appellation générale de piroplasmoses ou, plus communément, de « jaunisses », constituent le principal obstacle au développement de l'élevage et à l'amélioration des races bovines indigènes en Afrique du Nord. Elles y causent, pendant l'été surtout, des épizooties meurtrières ; de plus, sévissant avec prédilection dans les zones les mieux irriguées de la colonie, elles empêchent l'entière utilisation des pâturages les plus riches. L'étude des piroplasmoses bovines et des moyens de les combattre est donc, pour l'Algérie, d'un intérêt économique considérable.

Nous résumons, dans ce premier mémoire, les résultats des recherches systématiques que nous avons poursuivies sur ce sujet au cours des dix-huit derniers mois. Il en ressort que le groupe des piroplasmoses bovines comprend, en Algérie, cinq

(1) Le détail des observations et expériences sera publié dans les *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie*, 2, n<sup>o</sup> 1, 1924.

maladies infectieuses provoquées par cinq parasites sanguicoles distincts : 1. *Piroplasma bigeminum* (Smith et Kilborne, 1893); 2. *Babesiella berbera*, nov. sp.; 3. *Gonderia mutans* (Theiler, 1906); 4. *Theileria dispar*, nov. sp.; 5. *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910) (1).

#### I. — PIROPLASMA BIGEMINUM (Smith et Kilborne, 1893).

##### A. ISOLEMENT DU VIRUS.

Le virus étudié provient d'un bovin algérien parasité à la fois par *P. bigeminum*, *A. marginale* et *G. mutans* (2). Pour obtenir *P. bigeminum* à l'état de virus pur, nous avons mis à profit la différence de durée qui existe entre l'incubation de la maladie causée par ce protozoaire, d'une part, et d'autre part, l'incubation des infections à *A. marginale* et à *G. mutans*. Comme on le verra, l'incubation est, en effet, de quelques jours pour *P. bigeminum*, de quelques semaines le plus souvent pour *Anaplasma* et pour *Gonderia*.

Nous avons donc appliqué la méthode des *passages successifs rapides* qui consiste à transmettre l'infection d'un animal malade à un animal sain dès l'apparition des signes caractéristiques de la maladie chez le premier, c'est-à-dire, en l'espèce, dès la constatation de *P. bigeminum* dans le sang périphérique.

L'isolement du *P. bigeminum* à l'état de pureté a été réalisé dès le troisième passage, en utilisant des animaux tout récemment importés de France et reconnus indemnes au préalable (3). Le virus s'est maintenu pur au cours de seize passages par bovins.

(1) Nous avons, provisoirement, laissé de côté toute la partie de l'étiologie des piroplasmoses qui concerne la transmission par les Arthropodes.

(2) Sur trente-quatre bovins indigènes ou français nés en Algérie et sains en apparence, vingt-six, âgés de cinq mois à deux ans, nous ont montré une infection naturelle à *P. bigeminum*. L'infection naturelle de ces bovins fut décelée soit par l'examen microscopique direct, soit par l'inoculation de leur sang à des animaux indemnes, soit encore par une inoculation d'épreuve : il fut impossible de les infecter de *P. bigeminum* comme les animaux neufs.

(3) Pour l'étude expérimentale des piroplasmoses algériennes, nous nous sommes surtout servis de veaux de douze à dix-huit mois, de la race d'Aubrac, qu'a bien voulu nous choisir M. MARRE, chef des Services agricoles de l'Aveyron. Transportés à Alger par Port-Vendres, ces animaux sont conduits directement, dès leur débarquement, dans des étables désinfectées, désinsec-



L'observation des infections expérimentales obtenues chez dix-huit veaux français permet de tracer de la piroplasmose algérienne à *P. bigeminum* la description suivante (1) :

### B. DESCRIPTION DE L'INFECTION PURE.

La piroplasmose algérienne à *P. bigeminum* pur, ou piro-

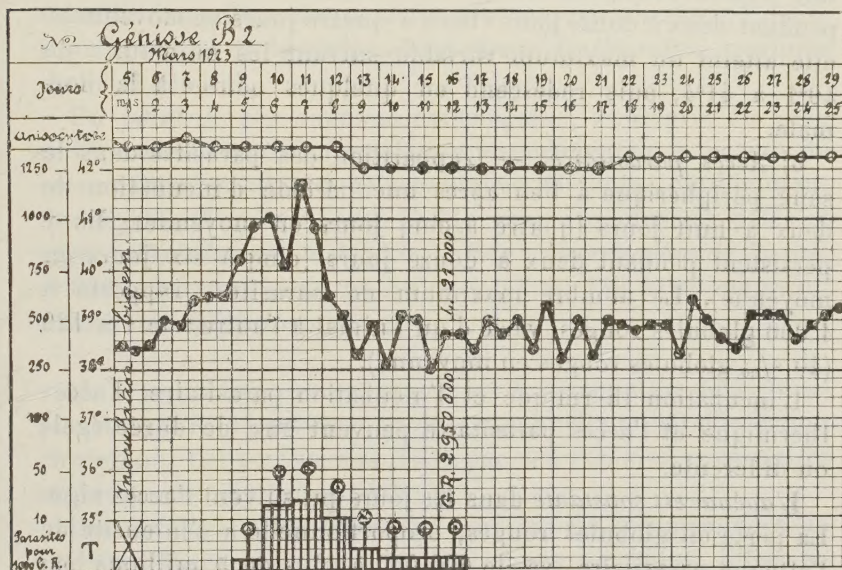


FIG. 1. — Piroplasmose à *P. bigeminum* : Accès de première invasion.

(La ligne de cercles, en haut du graphique, indique les variations de l'anisocytose, le O étant sur la ligne supérieure et la ligne descendant à mesure que l'anocytose croît; les disques pleins, la présence d'hématies ponctuées dans le sang périphérique.)

plasmose proprement dite, se traduit par un accès aigu de première invasion, suivi d'un stade d'infection chronique de longue durée.

tisées et isolées. On les nourrit de foin passé à l'autoclave, de son, de tourteau et de remoulage. La litière des étables est faite de sciure de bois et de petits copeaux de menuiserie.

(1) Des expériences poursuivies parallèlement sur trente-quatre bovins de race indigène ou française, nés en Algérie, nous ont montré que les animaux du pays se comportent à l'égard de *P. bigeminum* exactement comme les animaux importés.

I. ACCÈS AIGU DE PREMIÈRE INVASION. — L'accès aigu de première invasion est caractérisé par une fièvre cyclique, par l'apparition de parasites généralement nombreux dans le sang périphérique et par de l'anémie. On y peut distinguer : a) un accès thermique; b) un accès parasitaire.

a) *Accès thermique.* — Après une incubation de deux à huit jours (quatre à cinq jours en moyenne), la température rectale s'élève brusquement et se maintient au-dessus de 40° pendant deux à douze jours (trois à quatre jours en moyenne); elle atteint un maximum variable suivant les animaux : de 40°1 à 41°4, puis redescend en quelques heures à la normale.

b) *Accès parasitaire.* — L'apparition des parasites dans le sang périphérique a lieu après une période d'incubation de deux à huit jours (quatre à cinq jours en moyenne). Ils y persistent pendant deux à douze jours (cinq à six jours en moyenne). Le nombre maximum de parasites, rapporté à 1.000 globules rouges, varie d'un animal à l'autre : de 1 à 120 (40 ‰ globules rouges en moyenne).

L'incubation thermique et l'incubation parasitaire, l'accès thermique et l'accès parasitaire peuvent être de durée égale ou différente.

L'anémie est constante dans les jours qui suivent l'accès aigu. La perte en globules rouges, proportionnelle à l'intensité de l'attaque parasitaire, va de 600.000 à plus de 5 millions par millimètre cube de sang. Elle s'accompagne d'*anisocytose*, parfois extrêmement marquée et durant jusqu'à près de trois mois, de *poikilocytose*, de *polychromatophilie*. Il n'est pas rare de voir apparaître dans le sang périphérique des hématies à ponctuations basophiles, des hématies nucléées, des corps en pessaire et des corps en demi-lune. On note en même temps de la *leucocytose*; le nombre des leucocytes du sang périphérique peut être augmenté de 1.000 à 29.000 par millimètre cube.

Du point de vue clinique, les symptômes de l'accès aigu expérimental se réduisent généralement à de l'abattement, d'ailleurs fugace, et à des signes d'anémie légère. Très souvent, la maladie pourrait passer inaperçue si la thermométrie et l'examen microscopique n'en décelaient l'existence. On n'a jamais



observé d'ictère net (chez vingt-cinq animaux inoculés). L'hémoglobinurie a été notée deux fois (1).

Le pronostic est habituellement bénin (un cas de mort, sur dix-huit veaux français inoculés ; l'animal a succombé le quatrième jour de l'accès thermique, cinquième jour de l'accès parasitaire).

Le traitement par le trypanobléu, d'une efficacité remarquable, permet d'ailleurs de juguler en quelques heures les infections graves. Employé dans sept cas, il a toujours déterminé la disparition des parasites du sang périphérique, l'abaissement rapide de la température et une amélioration marquée de l'état général.

Du point de vue anatomo-pathologique, l'autopsie du veau qui succomba à une inoculation expérimentale a permis de reconnaître les altérations organiques suivantes, où dominent des lésions d'anémie : sang fluide, aqueux ; muscles pâles et cuits ; dégénérescence légère du foie ; hypertrophie de la rate (1.820 grammes, pour un poids total de 130 kilogrammes) ; urines hémoglobinuriques.

II. STADE D'INFECTION CHRONIQUE. — A l'accès aigu de la piroplasmose à *P. bigeminum* succède toujours un état d'infection chronique. Celle-ci se manifeste par des rechutes parasitaires ou bien reste absolument latente.

Les rechutes parasitaires ne sont jamais accompagnées de rechutes thermiques ni d'autres signes morbides. Elles se traduisent simplement par la réapparition des parasites dans le sang périphérique de l'animal infecté, à des intervalles de temps plus ou moins éloignés. C'est ainsi que des rechutes parasitaires ont pu être observées de quelques jours à six mois après la fin de l'accès de première invasion. Le nombre des rechutes, dans le même laps de temps, varie d'un animal à l'autre : certains bovins, en huit mois, ont présenté une rechute, d'autres deux, d'autres trois.

(1) Dans la maladie naturelle, on observe, en Algérie, une température élevée, oscillant entre 41° et 42° ; les signes cliniques habituels de la fièvre (inappétence, inrumination, inertie du rumen, engorgement du feuillet, constipation) ; des tremblements musculaires généralisés et très accentués et de l'hémoglobinurie dans tous les cas. Il n'y a pas d'ictère. La maladie aiguë dure une semaine environ. La mort peut survenir, parfois rapidement, si l'on ne recourt pas à temps aux injections de trypanobléu.

Les rechutes, de un à deux jours de durée en moyenne, surviennent sans cause apparente. Une *affection intercurrente* (accès aigu d'anaplasmose, par exemple) les provoque parfois.

Au cours des rechutes, le nombre maximum des parasites trouvés dans le sang périphérique est généralement peu élevé: de 1 à 6 pour 1.000 globules rouges.

L'infection chronique, latente ou non, ne trouble en rien l'état général des animaux. Nous l'avons vue persister jusqu'à plus de deux ans dans un cas et n'avons jamais observé la guérison complète. Les bovins en état d'infection chronique constituent donc des réservoirs de virus.

### C. ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DE *P. bigeminum*.

Dans le sang périphérique des animaux infectés, *P. bigeminum* se présente sous des aspects très différents: 1. Formes anaplasmoïdes (2 p. 100); 2. Formes rondes, régulières ou irrégulières (2 p. 100); 3. Formes elliptiques, régulières ou irrégulières (30 p. 100); 4. Formes bigéminées (55 p. 100); 5. Formes trigéminées et quadrigéminées (5 p. 100); 6. Formes de division (7 p. 100).

1. *Les formes anaplasmoïdes*, de 1  $\mu$  2 de diamètre en moyenne, ne se distinguent guère des anaplasmes vrais que par leur dimension plus grande. Leur rattachement à *P. bigeminum* est justifié par leur apparition, en même temps que d'autres formes parasitaires typiques, chez des animaux atteints de piroplasmose pure et, en particulier, indemnes d'anaplasmose.

2. *Les formes rondes* uniques dans un globule rouge sont rares. Généralement irrégulières, elles sont constituées par un anneau de cytoplasme, entourant une vacuole claire, et par un arc marginal de chromatine lâche. Leur diamètre moyen atteint 3  $\mu$ .

3. *Les formes elliptiques*, uniques dans un globule rouge, dessinent des figures variables: ellipses vraies, trapèzes, polygones et même triangles à bords flexueux et angles mousses. La forme en poire, isolée, est exceptionnelle. La chromatine, toujours bien colorable, disposée en une seule masse dans la presque totalité des cas, occupe des situations très diverses à l'intérieur du parasite: le plus souvent, elle s'étale le long d'un



bord, parfois s'étend transversalement en écharpe. Le cytoplasme marque par un liséré net, teint en bleu par le Giemsa,

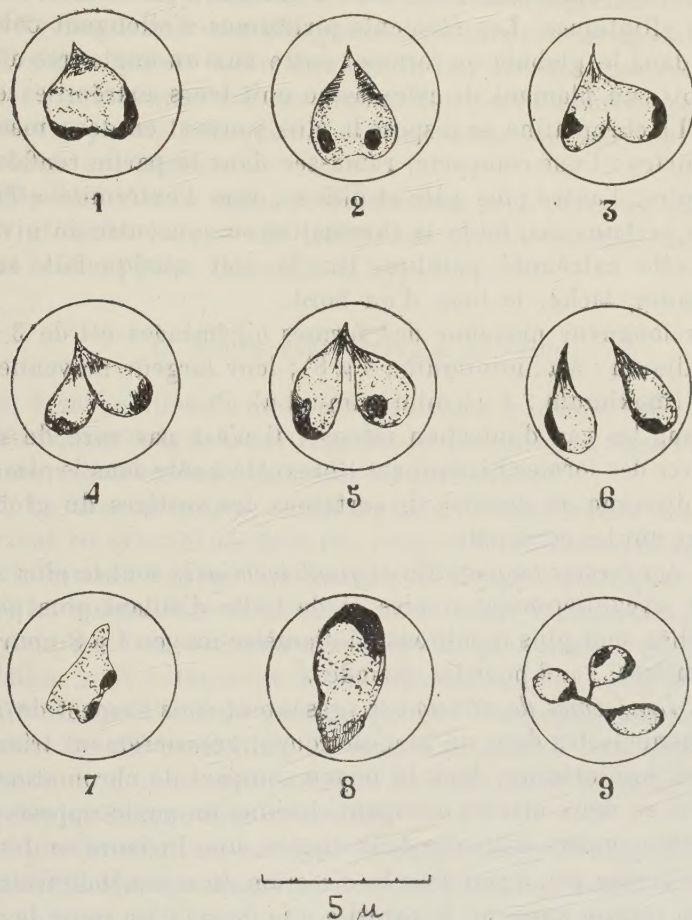


FIG. 2. — *Piroplasma bigeminum*.

1-5, formes de division ; 6, formes bigémminées ; 7, forme irrégulière ; 8, forme elliptique ; 9, forme en « trèfle ».

les contours de l'élément. L'aire centrale est occupée par une vacuole claire.

Les formes elliptiques mesurent  $3\mu,6$  de longueur sur  $2\mu$  de largeur en moyenne (maximum :  $6 \times 3,4$  ; minimum :  $2 \times 1$ ).

4. *Les formes bigéminées*, c'est-à-dire groupées par deux à l'intérieur d'un même globule rouge, constituent plus de la moitié des parasites. Elles sont d'ordinaire piriformes, rarement elliptiques. Les éléments piriformes s'allongent côte à côte dans le globule ou forment entre eux un angle très aigu. Parfois, un filament de cytoplasme unit leurs extrémités effilées. La chromatine se dispose le plus souvent en deux masses distinctes : l'une compacte, ramassée dans la partie renflée de la poire, l'autre plus pâle et diffuse, vers l'extrémité effilée. Dans certains cas, toute la chromatine se concentre au niveau de cette extrémité pointue. On la voit quelquefois aussi s'étendre, lâche, le long d'un bord.

La longueur moyenne des formes bigéminées est de  $3\ \mu\ 2$  (maximum :  $5\ \mu$  ; minimum :  $1\ \mu\ 8$ ) ; leur largeur moyenne de  $1\ \mu\ 7$  (maximum :  $3\ \mu$  ; minimum :  $1\ \mu$ ).

Dans les cas d'infection intense, il n'est pas rare de rencontrer des formes bigéminées libres côte à côte dans le plasma. On discerne au-dessous de certaines les vestiges du globule rouge qui les contenait.

5. *Les formes trigéminées et quadrigéminées* sont le plus souvent irrégulièrement rondes et de taille d'autant plus petite qu'elles sont plus nombreuses ; diamètre moyen  $1\ \mu\ 8$  pour les premières,  $1\ \mu\ 3$  pour les secondes.

6. *Les formes de division* se présentent sous l'aspect de gros éléments isolés dans un globule rouge, grossièrement triangulaires équilatéraux, dont le noyau compact de chromatine est divisé en deux masses occupant chacune un angle opposé. Sur le côté compris entre ces deux angles, une incisure se dessine et se creuse peu à peu dans la direction du sommet du triangle. A un certain moment, le parasite a la forme d'un cœur de carte à jouer. Parfois, un mince septum de cytoplasme, ébauche de la cloison de séparation des deux cellules-filles, réunit le fond de l'incisure au sommet du triangle. Certaines préparations montrent aussi la division du noyau clair qui occupe ce sommet. Le creusement progressif de l'incisure médiane aboutit à la séparation des deux moitiés du triangle et à la formation des éléments bigéminés décrits plus haut. Il s'agit là, en somme, d'une simple division binaire, à point de départ unilatéral. Au surplus, la forme en poire est transitoire et aboutit



à la forme elliptique, plus grande qui constitue le parasite adulte, uninucléé (1).

Nous n'avons jamais vu de *P. bigeminum* algérien dessiner des figures de reproduction par bourgeonnement comparables à celles que Nuttall et Graham-Smith ont décrites. Les seuls et rares aspects rappelant une gemmation proviennent de prolongements protoplasmiques fixés sans doute au cours de mouvements amiboïdes.

Pendant l'accès aigu, *P. bigeminum* peut parasiter jusqu'à 653 globules rouges sur 1.000. Les globules rouges infectés sont souvent pâlis, déformés et hypertrophiés.

#### D. ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DU VIRUS.

a) L'inoculation de matières virulentes transmet l'infection, quelle que soit la voie par laquelle on les introduit dans l'organisme : sous-cutanée, veineuse ou péritonéale.

b) Le virus se trouve, dans l'organisme des animaux infectés, partout où existent des globules rouges : l'inoculation d'organes est infectante comme l'inoculation de sang périphérique.

c) La quantité de virus inoculée a moins d'importance que sa virulence : on a donné une infection plus intense par l'inoculation sous-cutanée de 1/600 de centimètre cube de sang à virus exalté du dix-huitième passage que par l'inoculation intrapéritonéale de 400 centimètres cubes de sang d'un porteur chronique de germes, le nombre des parasites inoculés étant moindre dans le premier cas que dans le second.

d) Les inoculations successives et hâtives de *P. bigeminum* à dix-huit bovins (passages rapides) ont fortement exalté sa viru-

(1) On doit admettre que la disposition des éléments bigeminés, formant entre eux un angle très aigu, caractéristique de *P. bigeminum* et l'aspect des éléments en voie de division proviennent de la disproportion de taille qui existe entre ce parasite et le globule rouge hôte. La division binaire ne peut se faire que par une incisure unilatérale qui plie en deux, en quelque sorte, le corps parasitaire ; de plus, la longueur totale du *bigeminum* parvenu à la fin de la division étant supérieure à 6  $\mu$ , le diamètre du globule rouge (5-6  $\mu$ ) ne permet pas aux cellules-filles de se placer bout à bout sur un même axe, ni même de prendre une position sensiblement divergente. L'exemple d'un parasite très voisin mais plus petit, du sous-genre *Babesiella*, éclaire par contraste ce mécanisme morphologique : la *Babesiella* s'allonge et se divise à l'aise, par incisure bilatérale, à l'intérieur du globule ; les deux formes-filles peuvent s'y séparer largement en un angle très ouvert et même rester jointes dans le prolongement l'une de l'autre.

lence ; au dix-huitième passage, l'inoculation sous-cutanée de 1/600 de centicube de sang produit une infection aussi rapide et aussi intense que l'inoculation intraveineuse de 10 cmc au premier passage, le nombre des parasites inoculés étant le même, par centicube, dans le premier et dans le deuxième cas.

e) Le virus se conserve vivant et virulent *in vitro* et à la température de 10° pendant seize jours au moins.

f) Le mouton n'est pas sensible à l'inoculation de *P. bigeminum* et ne conserve pas le virus.

#### E. IMMUNITÉ ET PRÉMUNITION.

Nous n'avons pas observé de cas d'immunité naturelle contre *P. bigeminum*. On doit noter cependant que les animaux âgés de quelques semaines se montrent moins sensibles que les bovins plus âgés. On n'observe pas chez eux d'accès thermique, mais seulement un accès parasitaire.

Si l'on réinocule, avec *P. bigeminum*, un animal en état d'infection chronique, on n'observe jamais (trente-six cas) d'*accès aigu thermique* à la suite de cette réinoculation. L'animal réagit uniquement par un *accès parasitaire*, sans présenter ni symptômes morbides, ni altérations sanguines (vingt cas) ou même ne réagit pas du tout (seize cas).

L'*accès parasitaire de réinoculation* dure de un à vingt-trois jours (cinq-six jours en moyenne), après une incubation de deux à vingt-cinq jours (sept jours en moyenne). Le maximum de parasitisme du sang périphérique varie de 1 à 60 *P. bigeminum* pour 1.000 globules rouges (moyenne : 6 p. 1.000).

Une deuxième et une troisième réinoculation produisent les mêmes effets.

La résistance des animaux déjà infectés à un essai de surinfection correspond à ce que l'on a appelé l'immunité relative ou immunité-tolérance, par opposition à l'immunité vraie, stérilisante, que laissent, après la guérison, d'autres maladies infectieuses. Pour la commodité et la clarté du langage, nous proposons de substituer le terme de *prémunition* à l'expression d'immunité-tolérance ou d'immunité relative.

L'état de prémunition, qui implique la résistance de l'ani-



mal prémuni aux effets morbides d'une réinoculation ou d'une contamination nouvelle, est corrélatif de l'infection chronique et dure autant qu'elle. Il ne s'établit pas avant la deuxième semaine qui suit la première inoculation, comme nous l'avons constaté dans deux cas.

## II. — *BABESIELLA BERBERA*, NOV. SP.

Sous le nom de *Babesiella berbera*, nous désignons un parasite des bovins algériens appartenant au genre *Piroplasma* (*sensu lato*) et au sous-genre *Babesiella* Mesnil, 1919, et qui se distingue des autres espèces de *Babesiella*, connues jusqu'ici, par certains caractères morphologiques et biologiques (1).

### A. ISOLEMENT DU VIRUS.

Le virus nous a été fourni par un bovin algérien (2) atteint d'infection mixte à *B. berbera*, à *Anaplasma marginale* et à *Gonderia mutans*. Pour obtenir *B. berbera* à l'état pur, nous avons appliqué la méthode, déjà décrite à propos de *P. bigeminum*, des passages successifs rapides par bovins indemnes, importés de France et soigneusement préservés des contaminations naturelles. Le résultat visé a été atteint au quatrième passage; le virus s'est maintenu pur au cours de 10 passages ultérieurs.

L'observation des infections expérimentales obtenues chez 18 veaux français permet de donner de la piroplasmose algérienne à *B. berbera* la description suivante (3).

(1) Les caractères distinctifs de *B. berbera* seront définis plus loin, au paragraphe de la détermination spécifique des piroplasmes d'Algérie.

(2) L'examen microscopique ne nous a jamais révélé la présence de *B. berbera* dans le sang périphérique de bovins algériens sains en apparence; cependant, sur 32 animaux de cette origine, 16, âgés de un à deux ans, ont été reconnus atteints d'infection chronique latente à *B. berbera* soit grâce à une inoculation d'épreuve qui montra l'impossibilité de les infecter avec ce virus comme les animaux neufs, soit à la suite de l'inoculation de leur sang à des bovins indemnes.

(3) D'expériences effectuées parallèlement sur 12 bovins de race indigène ou française, nés en Algérie, il résulte que les animaux du pays se comportent à l'égard de *B. berbera* comme les animaux importés.

## B. DESCRIPTION DE L'INFECTION PURE.

La piroplasmose algérienne à *B. berbera*, ou *babesiell*ose, se traduit par un *accès aigu de première invasion*, suivi d'un *stade d'infection chronique* de longue durée.

I. ACCÈS AIGU DE PREMIÈRE INVASION. — L'accès de première invasion est caractérisé par une fièvre cyclique, par l'apparition

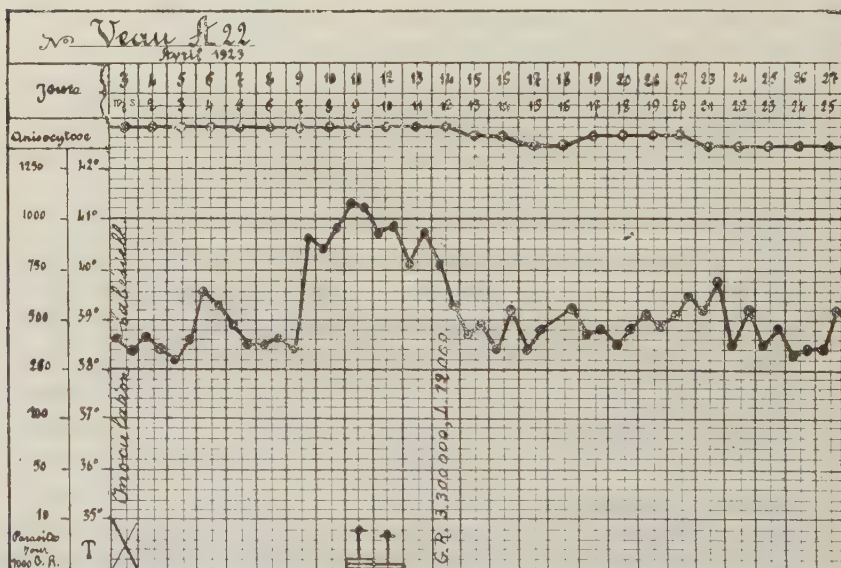


FIG. 3. — Babésiellose : Accès de première invasion (léger).

rition de parasites, généralement peu nombreux ou même rares, dans le sang périphérique et par de l'anémie.

a) *Accès thermique*. — Après une incubation de quatre à huit jours (cinq-six jours en moyenne), la température s'élève brusquement et se maintient au-dessus de 40° pendant quatre à dix jours (six-sept jours en moyenne). Elle peut être coupée de rémittences. Le maximum atteint varie de 40°4 à 41°8.

b) *Accès parasitaire*. — Les parasites apparaissent dans le sang périphérique après une période d'incubation de quatre à



neuf jours (six-sept jours en moyenne). Le nombre de *Babesiella* constaté par l'examen microscopique varie de 1 à 45 p. 1.000 globules rouges (10 p. 1.000 globules rouges en moyenne).

L'incubation thermique et l'incubation parasitaire, l'accès thermique et l'accès parasitaire sont, suivant les cas, de durée égale ou différente.

L'anémie est à peu près constante dans les jours qui suivent l'accès aigu (7 cas sur 8). La perte en globules rouges varie de 1.900.000 à plus de 4 millions par millimètre cube de sang. On

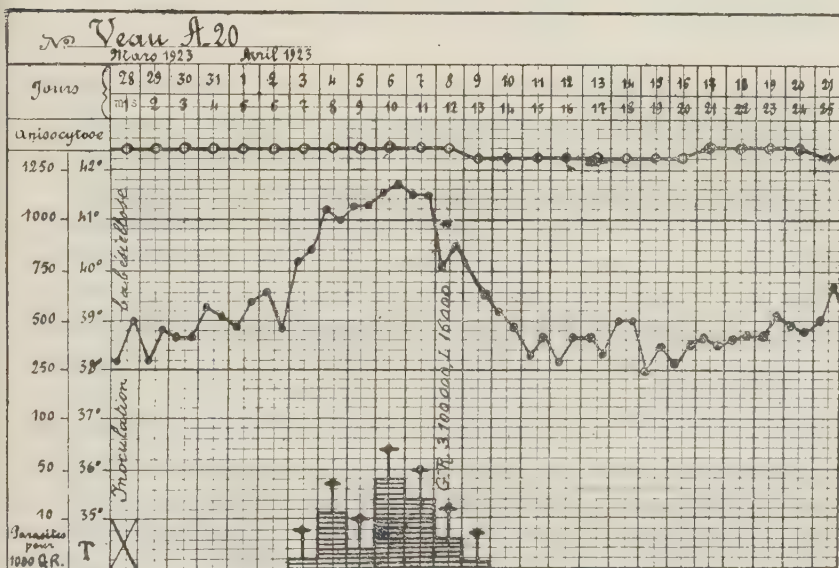


FIG. 4. — Babésiose : Accès de première invasion (fort).

note en même temps de l'*anisocytose*, durant parfois jusqu'à un mois, de la *polychromatophilie*, de la *pœcilocytose* et l'apparition d'hématies à ponctuations basophiles. On constate aussi (4 fois sur 7) de la *leucocytose* : le nombre des leucocytes du sang périphérique augmente de 1.000 à 13.000 par millimètre cube.

Du point de vue clinique, l'accès aigu expérimental se réduit à des signes d'anémie légère (pâleur des muqueuses) et à un peu de faiblesse. La maladie, pour la très grande majorité des

cas, passerait tout à fait inaperçue sans l'emploi quotidien du thermomètre. On a cependant constaté une fois de *l'hémoglobinurie* (1).

Le pronostic de l'accès aigu expérimental est toujours bénin : l'inoculation du virus que nous possédons à des animaux en bon état n'a jamais causé la mort. Seul, un veau cachectique a succombé à la babésiellose expérimentale.

Le traitement de l'accès aigu par le trypanobleu donne des résultats complètement négatifs (5 expériences) : ni la marche de la température, ni la courbe de l'accès parasitaire ne sont influencées.

II. STADE D'INFECTION CHRONIQUE. — A l'accès aigu de la babésiellose succède toujours un état d'infection chronique, qui se manifeste par des rechutes parasitaires (8 cas sur 13) ou bien reste absolument latente (5 cas sur 13).

Les rechutes parasitaires ne sont jamais accompagnées de rechutes thermiques ni d'autres signes morbides : elles se traduisent uniquement par la réapparition passagère des *Babesiella* dans le sang périphérique de l'animal infecté. L'intervalle qui sépare le dernier jour de l'accès aigu et la première rechute varie de moins d'un mois (6 cas) à plus de quatre mois (2 cas). Le nombre des rechutes, dans le même temps, diffère d'un animal à l'autre : certains bovins, en huit mois, ont présenté une rechute, d'autres deux, d'autres trois. Le nombre maximum de parasites trouvés dans le sang périphérique est toujours très peu élevé : de 1 p. 2.000 globules rouges à 2 p. 1.000.

Les rechutes parasitaires, de un à deux jours de durée en moyenne, surviennent sans cause apparente. Une *maladie intercurrente* (accès aigu d'anaplasmose, par exemple) les provoque parfois.

L'infection chronique à *B. berbera*, latente ou non, ne

(1) Dans la *maladie naturelle*, on note les signes habituels de la fièvre (inappétence, inrumination, etc.), parfois une agitation anormale, de l'ictère souvent, de l'hémoglobinurie toujours, de l'anémie et un amaigrissement rapide. Le pronostic est généralement très grave (5 cas de mort sur 6 observés). A l'autopsie des cadavres, on constate des signes d'anémie intense, de l'ictère et de l'hypertrophie de la rate. Les ganglions lymphatiques restent normaux. Le foie est décoloré, la vésicule biliaire distendue, le rein très congestionné, sans infarcti ni œdème périphérique. L'urine contenue dans la vessie est toujours teintée par l'hémoglobine.



trouble en rien l'état général des animaux. Nous l'avons vue persister jusqu'à plus de huit mois et n'avons jamais observé la guérison complète. Les bovins en état d'infection chronique constituent donc des réservoirs de virus.

### C. ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DE *Babesiella berbera*.

Dans le sang périphérique des animaux infectés, *B. berbera* se présente sous divers aspects : 1° formes anaplasmoïdes (4 p. 100); 2° formes rondes (59 p. 100); 3° formes allongées (subpiriformes et elliptiques (34 p. 100); 4° formes en voie de division (3 p. 100).

1. *Les formes anaplasmoïdes* (grains chromatiques sans cytoplasme visible) de  $0 \mu 9$  de diamètre en moyenne (minimum :  $0 \mu 7$ , maximum :  $1 \mu$ ) sont fréquentes surtout au début de l'accès aigu. Elles ne se distinguent guère des anaplasmes vrais que par leur taille généralement plus grande et par leur situation exclusivement centrale à l'intérieur du globule. Leur rattachement à l'espèce *B. berbera* est justifié par leur apparition chez des animaux atteints de babésiellose pure et indemnes d'anaplasmose.

2. *Les formes rondes*, uniques ou groupées par deux dans le globule rouge, sont les plus nombreuses. Irrégulières ou parfaitement circulaires, elles sont constituées par un anneau cytoplasmique entourant une vacuole centrale d'un blanc cru, au niveau de laquelle le globule semble troué à l'emporte-pièce. Dans les éléments les plus petits, la vacuole est remplacée par une plage rosâtre. L'épaisseur de l'anneau de cytoplasme mesure le quart ou même le tiers du diamètre total du parasite. La chromatine se colore souvent fort mal : le noyau est rarement punctiforme et d'un rouge franc; d'ordinaire diffus ou moniliforme ou encore fragmenté en deux ou trois parties, sa coloration se confond avec celle du cytoplasme et l'ensemble prend une teinte grise ou prune. A certaines formes rondes est attachée une queue de cytoplasme, comme à une feuille son pétiole. Leur diamètre moyen mesure  $1 \mu 5$  (maximum :  $2 \mu 8$ ; minimum :  $0 \mu 6$ ).

3. *Les formes allongées*, deux fois moins nombreuses que les formes rondes, sont, par ordre de fréquence, subpiriformes, ellip-

tiques, fuselées ou en triangle isocèle. La chromatine et le cytoplasme présentent les mêmes caractères que chez les formes rondes. Dans les éléments subpiriformes, la chromatine dessine un arc du côté renflé du parasite ou se partage en deux masses distinctes. On discerne rarement une plage de chromatine lâche près de l'extrémité effilée. Dans les formes elliptiques, la chromatine occupe le plus souvent l'une des extrémités; dans les formes en triangle isocèle, elle constitue la base du triangle.

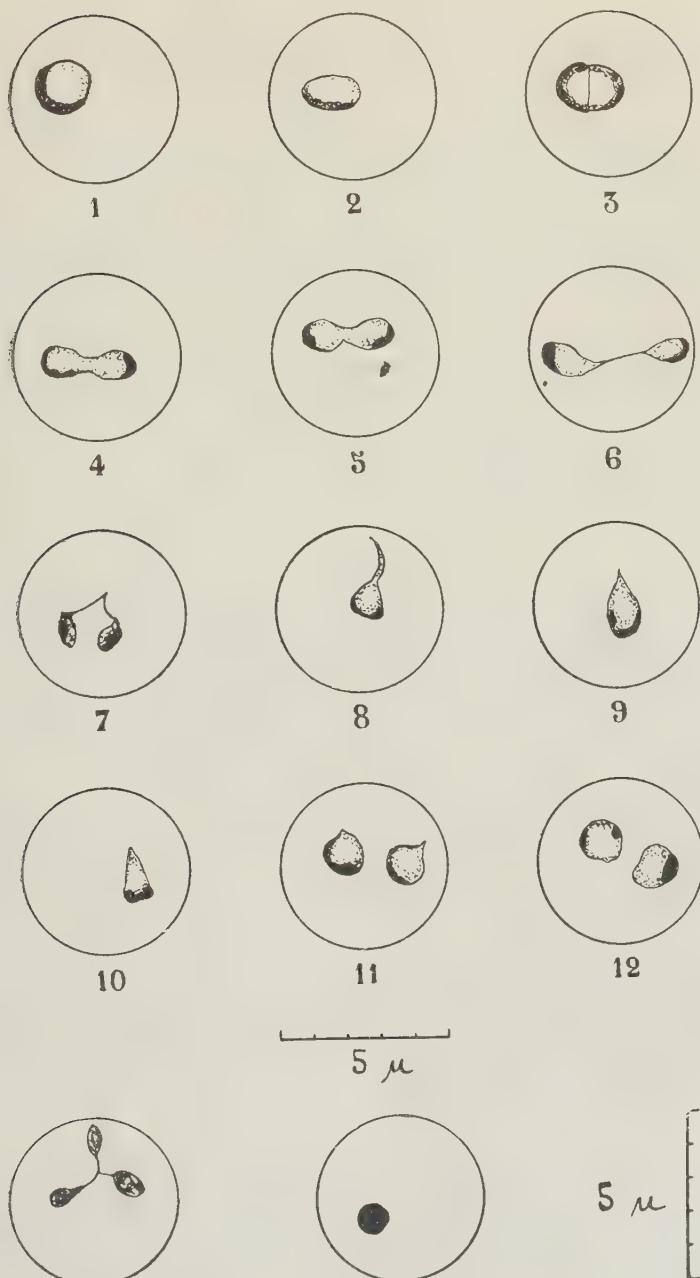
Les formes allongées mesurent en moyenne  $1\ \mu\ 9$  de longueur (maximum :  $3\ \mu\ 5$ ; minimum :  $0\ \mu\ 8$ ) sur  $1\ \mu$  de largeur (maximum :  $1\ \mu\ 8$ ; minimum :  $0\ \mu\ 4$ ).

4. *Les formes de division* montrent que la multiplication de *B. berbera* s'effectue par bipartition transversale. Un élément rond (1) s'allonge en une ellipse renflée à chromatine diffuse (2). Un mince septum apparaît suivant le petit axe de l'ellipse (3). La chromatine se concentre aux deux pôles et un étranglement bilatéral creuse le cytoplasme (4). Cet étranglement s'accroît (5). Bientôt, les deux cellules-filles sont nettement individualisées. Elles se disposent le plus souvent sur un même axe, unies entre elles par un filament cytoplasmique, comme des boulets ramés par leur chaîne (6). D'autres fois, elles forment l'une avec l'autre un angle aigu ou obtus. Après leur séparation, on peut voir la trace du filament d'union sous la forme d'une queue linéaire de cytoplasme (8) ou d'une pointe courte (11). C'est à ce stade que les éléments allongés, subpiriformes (9), et les éléments triangulaires (10) nous semblent devoir être rattachés. La division aboutit en définitive à la forme ronde (12), qui correspond au stade adulte.

Il convient de décrire à part certaines formes en trèfle, de  $2\ \mu\ 5$  à  $2\ \mu\ 3$  de diamètre total, qui rappellent les formes trigémminées de *P. bigeminum*. La chromatine en constitue la majeure partie. Leur signification et leur origine restent obscures; peut-être donnent-elles naissance aux éléments anaplasmoïdes.

Au cours de l'accès aigu, *B. berbera* parasite en moyenne 10 globules rouges sur 1.000. Il est donc généralement rare dans le sang périphérique. Les deux tiers environ des formes parasitaires se groupent par deux dans le même globule; pres-



FIG. 5. — *Babesiella berbera*.

1-6, division binaire du parasite; 7-12, formes diverses de *B. berbera*; En bas : forme « en trèfle » et forme anaplasmoïde.

que toujours, les éléments jumeaux sont de taille inégale. On a vu des hématies contenir trois et même quatre *Babesiella*. Ainsi que nous l'avons déjà indiqué, l'angle que forment entre eux les parasites subpiriformes, à l'intérieur d'un même globule rouge, dépasse souvent 90° et atteint jusqu'à 180°. Isolé ou jumelé, *B. berbera* ne coiffe jamais le bord du globule (comme il arrive pour *B. bovis*, par exemple).

Les hématies parasitées présentent, dans la moitié des cas environ, les modifications suivantes : réduites de volume, leur taille ne dépasse pas 4  $\mu$  (le diamètre normal du globule rouge du bœuf est de 5 à 6  $\mu$ ); de plus, elles prennent, par le Giemsa, une coloration plus foncée que les globules normaux, presque cuivrée. Ces altérations rappellent celles que produit, chez l'homme, *Plasmodium malarix*.

#### D. ETUDE EXPÉRIMENTALE DU VIRUS.

a) L'inoculation de matières virulentes transmet l'infection, quelle que soit la voie par laquelle on les introduit dans l'organisme : sous-cutanée, veineuse ou péritonéale.

b) Le virus se trouve partout où existent des globules rouges : l'inoculation d'organes (ganglions lymphatiques) est infectante comme l'inoculation de sang périphérique.

c) Les inoculations successives et hâtives de *B. berbera* à 14 bovins (passages rapides) n'ont pas exalté sa virulence. Cependant, l'inoculation intraveineuse de 1 cent. cube de sang a produit les mêmes effets, dans les derniers passages, que l'inoculation intraveineuse de 10 cent. cubes dans les premiers.

d) Le virus se conserve vivant et virulent *in vitro* et à la température de 24° pendant huit jours au moins.

e) Le mouton n'est pas sensible à l'inoculation de *B. berbera* et ne conserve pas le virus.

#### E. IMMUNITÉ ET PRÉMUNITION.

Nous n'avons pas observé de cas d'immunité naturelle contre *B. berbera*. Les animaux jeunes semblent aussi réceptifs que les animaux plus âgés (une observation, veau de deux mois et demi).

Si l'on réinocule avec *B. berbera* un bovin en état d'infection chronique, cette inoculation ne provoque le plus souvent aucune sorte de réaction (68 cas). Mais elle peut être suivie soit d'un accès thermique de très courte durée (un jour), accompagné ou non d'accès parasitaire (4 cas), soit, simplement, d'un accès parasitaire (16 cas). On doit noter que les *B. berbera* étant généralement rares dans le sang périphérique, même au cours des accès aigus de première invasion, un certain nombre d'accès parasitaires de réinoculation passent sans doute inaperçus.

L'accès parasitaire de réinoculation dure de un à cinq jours (deux jours en moyenne), après une période d'incubation de quatre à quinze jours (neuf jours en moyenne). Il ne se complique ni de symptômes morbides ni d'altérations sanguines. Le maximum du parasitisme du sang périphérique varie de 4 à 8 *Babesiella* pour 1.000 globules rouges (moyenne : 3 pour 1.000).

La résistance des bovins déjà infectés aux tentatives de surinfection montre que ces animaux sont en état de prémunition. Comme pour *P. bigeminum*, la prémunition contre *B. berbera* est corrélative de l'infection chronique et dure autant qu'elle.

### III. — GONDERIA MUTANS (Theiler, 1906).

#### A. — Isolement du virus.

*Gonderia mutans* a été trouvé à l'état de virus pur chez 3 bovins importés de France, dès leur débarquement à Alger. Nous avons vérifié la pureté de l'infection de ces 3 bovins non seulement par l'examen microscopique direct, mais encore par l'inoculation de leur sang à des animaux indemnes (1).

(1) Ces cas posent la question de l'existence de *G. mutans* dans certaines régions de la France. En Algérie, 34 bovins examinés, âgés de deux mois et demi à trois ans, nous ont montré une infection naturelle à *G. mutans*. Six autres, indemnes en apparence, ont réagi à une inoculation d'épreuve par un accès parasitaire. On n'en saurait déduire que ces animaux étaient sûrement indemnes, car, ainsi que nous l'exposerons plus loin, l'infection à *G. mutans* n'empêche pas une surinfection et, d'autre part, les périodes de latence du parasitisme peuvent durer plusieurs mois.



L'observation de 40 bovins permet de donner de l'infection pure à *G. mutans* la description générale suivante :

#### B. DESCRIPTION DE L'INFECTION PURE.

L'infection pure à *G. mutans* ou *gondériose* se traduit par un accès parasitaire de première invasion (8 cas) ou prend d'emblée les allures d'une infection chronique (15 cas).

1. *Accès parasitaire de première invasion.* — L'accès parasitaire de première invasion, quand il existe, n'est accompagné ni de fièvre, ni de symptômes cliniques appréciables. Les parasites apparaissent dans le sang périphérique après une période d'incubation très variable : de trois à soixante et onze jours (trente et un jours en moyenne) après l'inoculation. Comme on le verra par la suite, la durée de l'incubation dépend nettement de la quantité de virus inoculée. Les parasites persistent dans le sang périphérique pendant un temps plus ou moins long : de huit à quarante jours (vingt-trois jours en moyenne). Le nombre maximum de *Gonderia* trouvé va de 2 à 90 pour 1.000 globules rouges (21 p. 1.000 en moyenne). La durée et l'intensité de l'accès parasitaire sont en fonction directe de la dose infectante.

Dans un seul cas, à accès parasitaire particulièrement fort (90 parasites pour 1.000 globules rouges), on a constaté de l'anémie (perte de 2 millions de globules rouges par millimètre cube de sang) et une anisocytose très marquée durant trois mois. Du point de vue clinique, l'accès primaire de la gondériose passe totalement inaperçu et n'entraîne jamais la mort. Sa bénignité constante dispense de recourir à aucune médication curative ou symptomatique.

2. *Stade d'infection chronique.* — L'infection chronique succède à l'accès parasitaire de première invasion ou s'établit d'emblée après la contamination. Elle peut rester longtemps latente (jusqu'à plus de six mois) et ne se manifester que par l'apparition à longs intervalles de parasites, en général très rares, dans le sang périphérique. En moyenne, les *Gonderia* y sont constatés quatre jours par mois. Le parasitisme du sang périphérique présente souvent (12 cas sur 24) une recrudescence nette aux approches et presque jusqu'à la fin du prin-

temps, de février à mai. Ces *rechutes printanières* durent de quelques jours à deux mois, avec un maximum de parasites qui varie entre 4 à 25 pour 1.000 globules rouges.

Pas plus que l'accès parasitaire de première invasion, l'infection chronique ne provoque de troubles de l'état général. Nous l'avons vue persister jusqu'à plus de trente mois. Les animaux infectés constituent donc des réservoirs de virus.

L'infection chronique à *G. mutans* ne se transmet pas de la mère au fœtus (1 observation).

### C. ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DE *Gonderia mutans*.

L'étude morphologique de 8.000 *G. mutans*, provenant de 50 bovins, confirme la description qui a été donnée ici même de ce parasite (1). On peut distinguer des formes : 1° anaplasmoïdes (OA, OAX, = 0,4 p. 100); 2° rondes (OAA, OAAA, IA, IAA, IAX = 20 p. 100); 3° en ellipse (IBO, IB, IBX, IBXX = 35,6 p. 100); 4° en bâtonnet (IIA1, IIA2, IIB1, IIB2, IIIm, IIIf = 42 p. 100); 5° en croix (IC = 2 p. 100).

1. Les *formes anaplasmoïdes*, simples (fig. OA) ou doubles (fig. OAX), mesurent en moyenne 0  $\mu$  9 de diamètre. Ces grains chromatiques, sans cytoplasme visible, appartiennent bien au cycle évolutif de *G. mutans*, car on les observe, à côté de formes typiques, chez des bovins exempts d'anaplasmose.

2. Les *formes rondes* ont l'aspect soit d'un grain de chromatine coiffé d'un cytoplasme en calotte (fig. OAA) ou en languette allongée (fig. OAAA), sans vacuole, soit d'un anneau composé mi-partie de chromatine, mi-partie de cytoplasme, avec une vacuole centrale (fig. IA, diamètre = 1  $\mu$  et fig. IAA, diamètre = 1 à 2  $\mu$ ). Dans certains éléments annulaires, le demi-cercle de chromatine présente 2 renflements qui font penser à une division nucléaire.

3. Les *formes en ellipse* offrent les mêmes caractères généraux que les formes annulaires. La chromatine est tantôt punctiforme et l'élément évoque alors l'image d'une montgol-fière (fig. IBO), tantôt disposée en arc (fig. IB), tantôt pourvue de deux renflements distaux (fig. IBX). Un certain nombre d'élé-

(1) Ces *Annales*, 35, mars 1921, p. 193.

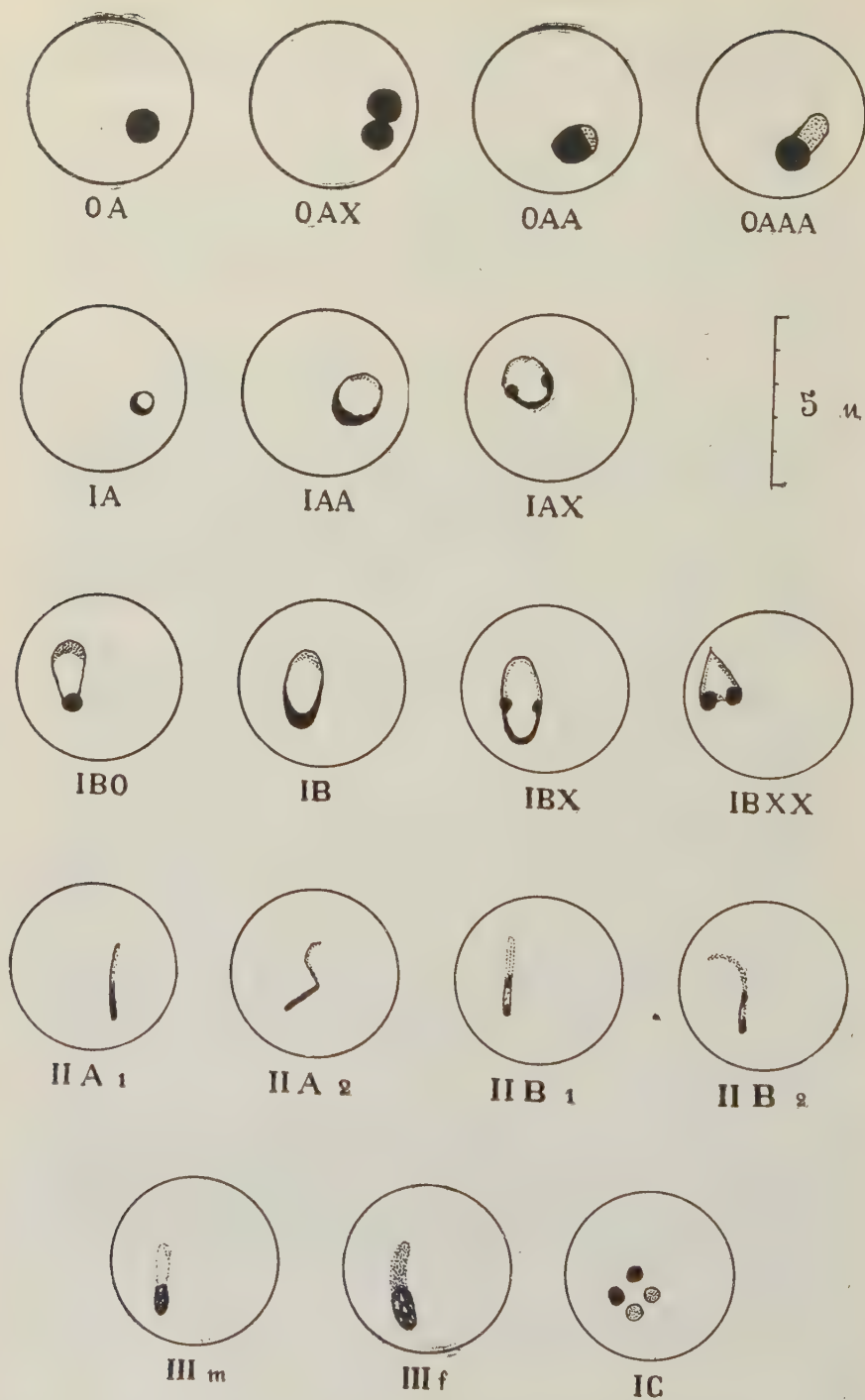


FIG. 6. — *Gonderia mutans* : Types morphologiques du parasite.



ments (fig. IBXX) que l'on peut rattacher à ce groupe, sont subtriangulaires; la chromatine, séparée en deux grains, y occupe les deux angles de la base.

4. Les formes en bâtonnet rectiligne (IIA1), ou plus ou moins tordu (fig. IIA2), sont composées mi-partie de chromatine et mi-partie de cytoplasme. La disposition de la chromatine en une sorte de tige allongée, bacilliforme, est caractéristique de *G. mutans*. Dans certains éléments, droits (fig. IIB1) ou incurvés (fig. IIB2), la chromatine présente deux renflements qui font penser à une division nucléaire. D'autres *Gonderia* (fig. IIIm et IIIf), courts et trapus, possèdent des caractères de gamètes mâles et femelles (1).

Les bâtonnets longs mesurent en moyenne  $2 \mu 4$  de longueur sur  $0 \mu 2 \times 0 \mu 3$  de largeur, les bâtonnets courts,  $2 \mu 3$  sur  $0 \mu 5 - 0 \mu 9$ .

5. Les formes en croix comptent 4 ou parfois 3 grains de chromatine, de  $4 \mu 5$  de diamètre moyen.

Comme nous l'avons exposé (2), la multiplication de *G. mutans* dans l'organisme du bœuf paraît s'opérer par division binaire des formes rondes et des formes en bâtonnet, ou par division quaternaire (formes en croix). Certains éléments bacilliformes semblent aboutir à la formation de gamètes.

La ponction des organes internes (foie, rate, ganglions), pratiquée sur des bovins au cours de l'accès parasitaire de première invasion de la gondériose ou de l'infection chronique, n'a jamais permis d'y déceler des éléments comparables aux corps en grenade de la theilériose.

*G. mutans* parasite en moyenne 21 globules rouges sur 1.000 pendant l'accès de première invasion, lorsqu'il existe. L'infection multiple d'un même globule rouge est très rare.

#### D. ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DU VIRUS.

a) Les inoculations de sang ou d'organes virulents (foie, rate) donnent des résultats de même ordre, qu'elles soient pratiquées par la voie sous-cutanée, veineuse ou péritonéale.

b) La brièveté de l'incubation, la durée de l'accès parasitaire

(1) *Loc. cit.*

(2) *Loc. cit.*

de première invasion, l'intensité du parasitisme sont en proportion directe de l'abondance du virus inoculé. L'inoculation de doses très faibles (sang prélevé sur un veau en incubation de gondériorse, par exemple) peut n'être pas infectante.

c) Les passages successifs du virus par des veaux indemnes de race pure n'ont produit aucune exaltation de la virulence. Au contraire, les infections obtenues ont toujours été moins intenses que l'infection d'origine.

d) *Gonderia mutans* se conserve vivant et virulent à 12°, pendant quatorze jours au moins.

e) Le mouton n'est pas sensible à *G. mutans* et ne conserve pas le virus.

### E. IMMUNITÉ ET PRÉMUNITION.

Nous n'avons observé aucun cas d'immunité naturelle. Les bovins jeunes sont aussi réceptifs que les animaux plus âgés.

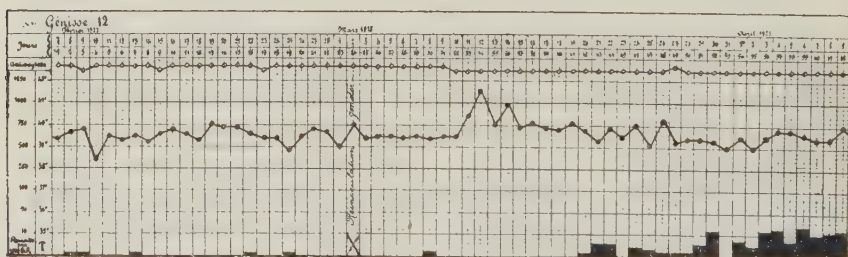


FIG. 7. — Gondériorse : Accès parasitaire de réinoculation chez un bovin en état d'infection chronique.

Si l'on réinocule de *G. mutans* un bovin en état d'infection chronique, on peut n'observer aucune sorte de réaction (15 cas). Chez certains animaux (14 cas), la réinoculation produit un accès parasitaire.

L'accès parasitaire consécutif à la réinoculation ne diffère en rien d'un accès de première invasion. Après une incubation de dix-sept à quarante jours (vingt-cinq jours en moyenne), les parasites réapparaissent dans le sang périphérique et y persistent de un à trente-huit jours (quinze jours en moyenne). Leur nombre maximum varie de 1 à 43 pour 1.000 globules

rouges (18 p. 1.000 en moyenne). L'accès est d'autant plus intense que la dose de virus inoculée est plus considérable. Il ne s'accompagne ni d'élévation de la température, ni de symptômes généraux. Une seule fois, on a noté de l'anémie et des altérations globulaires.

Ces constatations autorisent à conclure que, contrairement à ce qui se passe dans la piroplasmose et dans la babésiellose, la réinoculation provoque souvent (14 fois sur 29) un accès parasitaire en tous points semblable à un accès de première invasion, comme s'il y avait véritablement surinfection. L'infection chronique à *G. mutans* ne s'accompagne donc pas d'un état de prémunition.

#### IV. — *THEILERIA DISPAR*, NOV. SP.

Nous désignons par le qualificatif spécifique de *dispar* un piroplasma algérien appartenant au genre *Theileria* et voisin de *Theileria parva* (Theiler, 1904) de l'Afrique du Sud, mais que certains caractères constants séparent de cette dernière espèce : contrairement à *Th. parva*, *Theileria dispar* est transmissible par l'inoculation du sang des animaux infectés, provoque de l'anémie et de la splénomégalie.

##### A. ISOLEMENT DU VIRUS.

La méthode des passages successifs rapides a permis de séparer *Th. dispar* de *G. mutans* et de *P. bigeminum* auxquels nous l'avons primitivement trouvé associé. Cet isolement à l'état de virus pur a été réalisé au septième passage.

##### B. DESCRIPTION DE L'INFECTION.

La theilériose à *Th. dispar* se traduit uniquement par un accès aigu ; elle ne comporte jamais de stade chronique (d'après 102 cas observés au laboratoire). L'accès aigu fébrile est presque toujours accompagné d'un accès parasitaire.

a) ACCÈS THERMIQUE. — Après une période d'incubation dont la



durée varie de douze à vingt-quatre jours (seize à dix-sept jours en moyenne), la température s'élève rapidement et se maintient

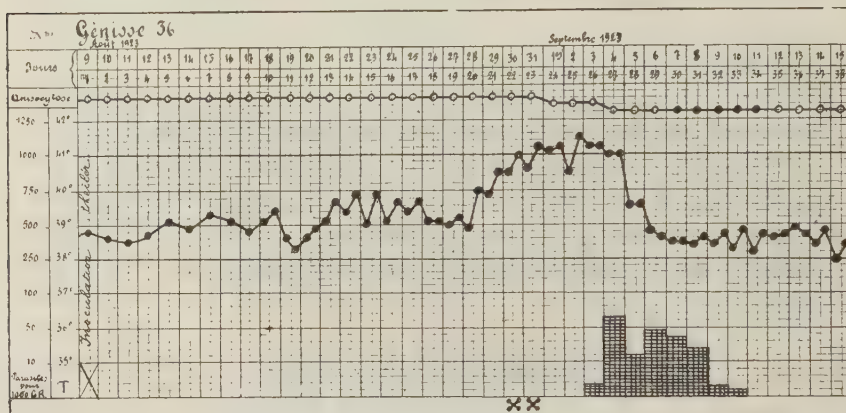


FIG. 8. — Theilériose : Accès typique. Guérison.

Les croix au-dessous du graphique signalent les corps en grenade dans le foie.

à un degré élevé pendant un à quatorze jours (cinq jours en moyenne). Elle est parfois coupée de rémittences et redescend

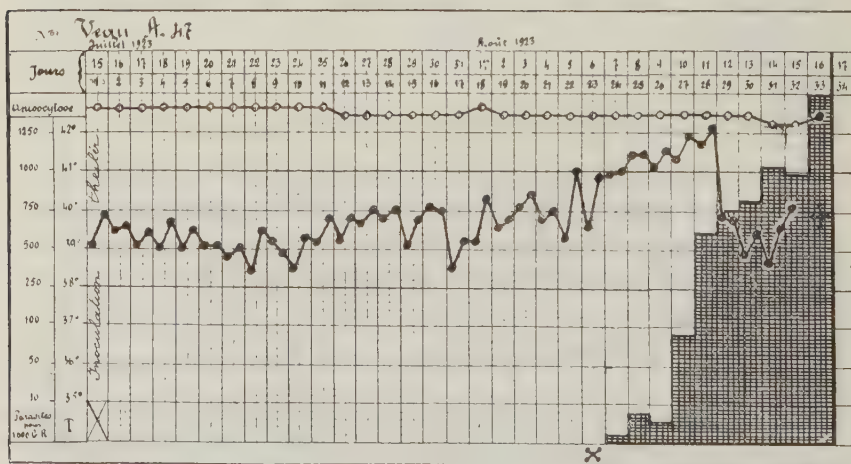


FIG. 9. — Theilériose : Accès mortel.

à la normale en quelques heures. Le maximum thermométrique atteint au cours de l'accès oscille entre 40°3 et 42°4, suivant les

animaux. De un à quinze jours après la défervescence, le plus souvent vers le troisième ou le quatrième jour, on observe chez

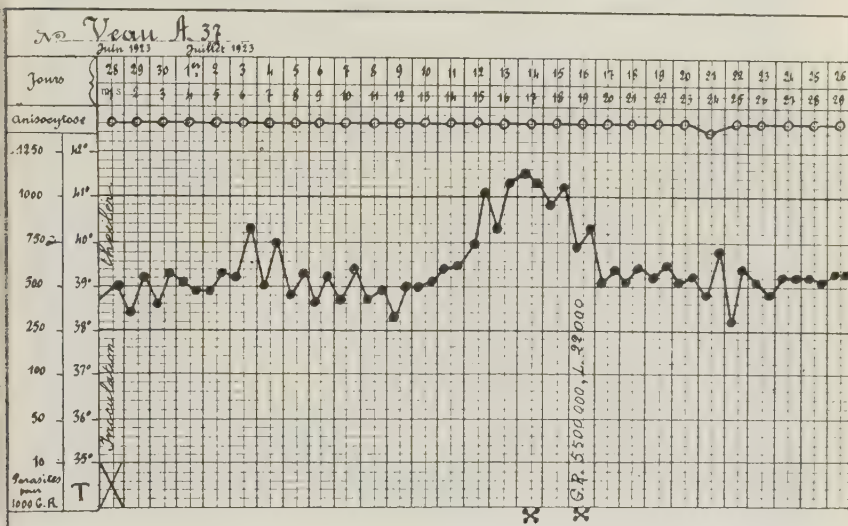


FIG. 10. — Theilériose : Accès thermique, sans accès parasitaire.  
Les croix au-dessous du graphique signalent les corps en grenade dans le foie.

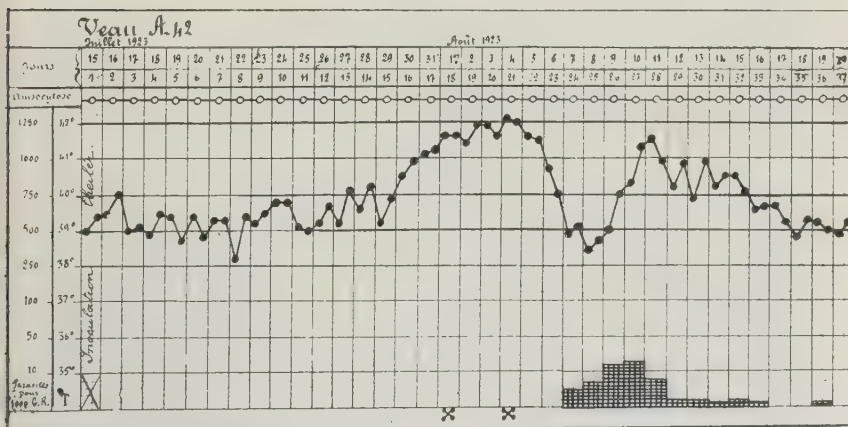


FIG. 11. — Theilériose : Accès avec rechute thermique.

certains bovins (16 fois sur 95) une *rechute thermique* d'une durée de un à six jours (trois jours en moyenne ; température maximum : 40° à 41°5).

b) ACCÈS PARASITAIRE. — L'évolution des *Theileria* comprenant deux phases successives, il y a lieu de distinguer, dans l'accès parasitaire, d'une part ce qui a trait aux *Plasmakugeln* de R. Koch (appellation que nous traduirons par le terme de *corps en grenade*) et, d'autre part, les constatations relatives aux formes intraglobulaires du sang périphérique.

1. *Corps en grenade*. — On peut considérer comme période d'incubation des corps en grenade l'intervalle de temps qui sépare le jour de l'inoculation infectante du moment où ces corps sont découverts dans les organes internes (foie, rate, ganglions), par le moyen d'une ponction exploratrice (1). La ponction exploratrice, pratiquée généralement dès le début de l'accès thermique nous a montré que la période d'incubation des corps en grenade ainsi définie varie de treize à vingt-six jours (dix-huit jours en moyenne); ils existent donc dans les organes internes aussitôt que la fièvre s'allume. Nous les avons vus y persister jusqu'à la veille de la défervescence. En revanche, des ponctions opérées pendant l'incubation (5 cas) et trois jours après le retour à l'apyrexie (1 cas) ont donné des résultats négatifs.

Les corps en grenade peuvent n'être pas décelables, par les moyens usuels, dans les accès bénins (18 cas sur 91). On les trouve parfois dans le sang périphérique; il s'agit alors d'infections particulièrement graves.

2. *Formes intraglobulaires*. — Les formes intraglobulaires se montrent dans le sang circulant de quatorze à trente jours

(1) Nos premières recherches de corps en grenade ont été faites selon la technique sud-africaine, par ponction des ganglions préscapulaires ou précruraux ou de la rate. Elles n'ont, assez souvent, donné que des résultats négatifs. La ponction du foie — complètement inoffensive — nous a, au contraire, procuré toute satisfaction: elle constitue un procédé de diagnostic infaillible. En voici le manuel opératoire:

Le lieu d'élection, pour la ponction du foie, est situé dans le onzième (ou avant-dernier) espace intercostal droit, à deux travers de doigt au-dessous d'une ligne horizontale passant par l'angle externe de l'ilium. Après avoir perforé la peau à l'aide d'un bistouri pointu, on enfonce une aiguille à baïonnette de haut en bas et d'arrière en avant, dans la direction du sternum. Si le sujet est atteint de theilériose, et même si on opère tout au début de l'hyperthermie, la pénétration de l'aiguille dans le foie hypertrophié est assurée et facilement perçue. On retire alors l'instrument et on étale sur des lames de verre la pulpe hépatique contenue dans sa lumière. L'écoulement d'un jet de sang ne gêne nullement l'opération. Lorsqu'il s'agit d'animaux dont le foie n'est pas hypertrophié (animaux sains ou ayant terminé depuis plusieurs jours leur accès de theilériose), l'opération peut être laborieuse et parfois impossible.





FIG. 12. — Theilériose bovine : Ponction du foie au lieu d'élection, sur le vivant, pour la recherche des corps en grenade.



FIG. 13. — Ponction du foie. L'aiguille est enfoncée au point d'élection.



FIG. 14. — Etalement sur lame de la pulpe hépatique prélevée par la ponction.

après l'inoculation infectante (vingt et un jours en moyenne), c'est-à-dire avec un retard de zéro à quinze jours (quatre jours

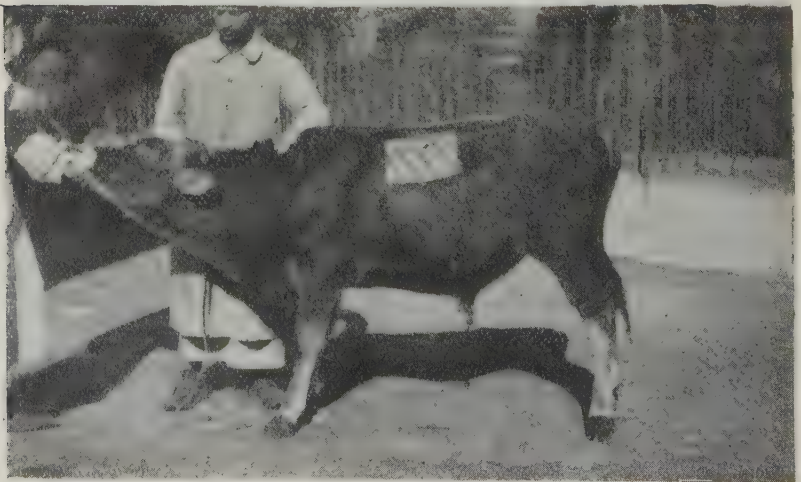


FIG. 15. — Theilériose : Lieu d'élection pour la ponction de la rate.

en moyenne) sur la fièvre, et de zéro à treize jours (trois jours en moyenne) sur les corps en grenade. Elles apparaissent tantôt



FIG. 16. — Ponction de la rate.

nombreuses d'emblée, tantôt rares d'abord, puis de plus en plus abondantes, persistent de un à dix-huit jours (six jours en



FIG. 17. — Theilériose : Lieux d'élection pour la ponction des ganglions (préscapulaire et précrural).





FIG. 18. — Temps préparatoire de la ponction du ganglion.  
Incision de la peau.

moyenne), et disparaissent ensuite définitivement. Elles manquent parfois (accès légers, 28 cas sur 84). Le nombre



FIG. 19. — Ponction du ganglion précrural.

maximum de parasites intraglobulaires constaté varie de 1 à 1.920 pour 1.000 globules rouges (140 p. 1.000 en moyenne) (1).

L'anémie est constante à la suite de la theilériose, et d'autant plus marquée que l'accès a été plus intense. La perte en globules rouges peut aller de 300.000 à 3.500.000 par millimètre cube de sang. On note en même temps de l'anisocytose, des hématies polychromatophiles, des hématies ponctués et de la



FIG. 20. — Bovin en accès de theilériose. Facies caractéristique (abattement, larmoiement).

*leucocytose* : les globules blancs augmentent de 2.000 à 32.000 par millimètre cube.

*Du point de vue clinique*, les symptômes de la maladie sont les mêmes, qu'il s'agisse de la theilériose expérimentale ou de la theilériose naturelle. Ils se manifestent dès le début de l'hyperthermie : les animaux, efflanqués, abattus et tristes, la tête basse, les paupières tuméfiées et mi-closes, les yeux larmoyants, sont souvent dans un état typhique voisin de la stupeur.

(1) Dans un cas de theilériose naturelle, le nombre des parasites a dépassé le chiffre énorme de 2.300 pour 1.000 globules rouges.

Couchés dans le décubitus sternal, ils ne se lèvent, très péniblement, qu'après de multiples et vigoureuses excitations. La muqueuse conjonctivale, tout d'abord congestionnée ou de couleur capucine, blanchit peu à peu ; des *pétéchies* rondes, de 1 à 5 millimètres de diamètre, y apparaissent, plus ou moins



FIG. 21. — Theilériose : Hypertrophie du ganglion précrural.

nombreuses ; plus rarement, elle présente une teinte nettement ictérique. On peut observer les mêmes colorations sur les muqueuses buccale et vulvaire. Un amaigrissement rapide, la suppression de l'appétit et de la rumination, l'atonie du rumen, la constipation chronique ou, dans certains cas, de la diarrhée sanglante, l'accélération des mouvements respiratoires (de 40 à 80 et plus, par minute) et des battements cardiaques (80 à 140



à la minute), l'arythmie même, l'hypothermie et la chute de la pression sanguine aux approches de la mort, complètent le tableau. Les bruits du cœur, bien frappés durant les premiers jours, s'affaiblissent par la suite; des souffles anémiques s'y surajoutent ou les remplacent.

L'*anémie*, en effet, domine la scène à mesure que la maladie se prolonge : le sang, normal ou même foncé au début, comme dans les septicémies aiguës, devient clair et fluide au point de couler aussi facilement que de l'eau. Du côté des ganglions lymphatiques externes (des préscapulaires et des précuraux, en particulier), on note de la tuméfaction, ordinairement légère, rarement considérable. Du côté de l'appareil génito-urinaire, on observe parfois de l'*hématurie*. La lactation est toujours arrêtée chez les femelles; certaines avortent ou mettent bas prématurément. Rythme de Cheyne-Stokes, dyspnée nerveuse, agitation violente ou accès de fureur, pica, raideur de la nuque, contractures latérales de l'encolure, mouvements de gyration traduisent enfin, dans quelques cas, l'atteinte plus ou moins profonde du système cérébro-spinal.

Tels sont, brièvement énumérés, les symptômes que l'on peut constater dans la theilériose. Il est exceptionnel de les trouver réunis au complet chez un même malade; la maladie, d'autre part, offre tous les degrés d'acuité, depuis le simple accès de fièvre qui pourrait passer presque inaperçu sans le contrôle de la thermométrie, jusqu'aux formes les plus graves, où l'on note les divers signes de septicémie, puis d'anémie. Car, en définitive, la theilériose est une septicémie aiguë, compliquée d'anémie.

La durée de la theilériose varie de un à quinze jours, qu'elle évolue vers la guérison ou se termine par la mort. Celle-ci, en effet, peut survenir soit brusquement et tout au début de l'accès, soit au bout d'un temps plus ou moins long. D'ordinaire, les malades succombent entre le troisième et septième jour, en hypothermie généralement. Plus tardive, c'est-à-dire du huitième au quinzième jour, la mort résulte de l'anémie aiguë; plus tardive encore, de l'incapacité réactionnelle des divers organes lésés par l'infection. Lorsque l'accès aboutit à la guérison, les symptômes s'amendent progressivement. Les yeux s'ouvrent, l'appétit, la rumination réapparaissent. La convalescence est plus ou moins lente suivant les soins théra-

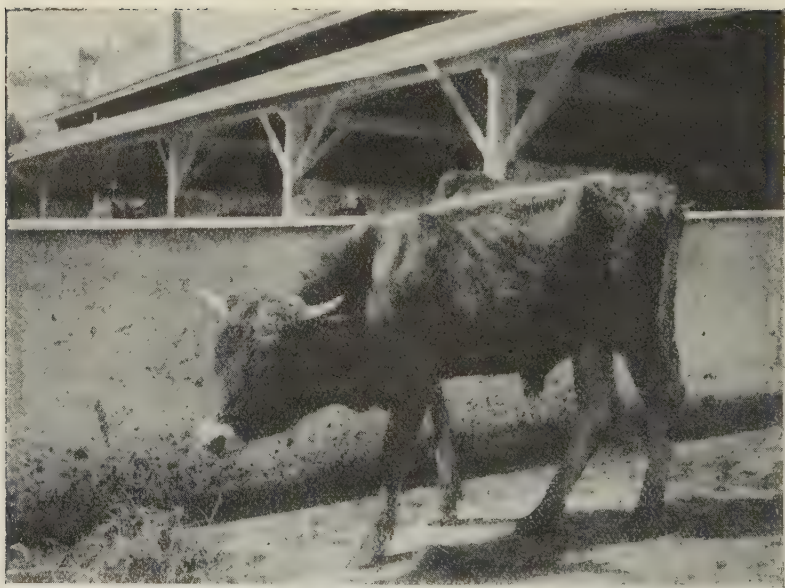


FIG. 22. — Theilériose expérimentale : Etat cachectique d'un animal après un accès de longue durée.



FIG. 23. — Theilériose expérimentale : Contracture cervicale préagonique.

peutiques et hygiéniques dont on entoure l'animal et surtout suivant la gravité de l'atteinte : quand une theilériose grave a



FIG. 24. — Theilériose expérimentale : Pétéchies de l'épicarde (sillon auriculo-ventriculaire).

frappé des bovins peu résistants, plusieurs semaines s'écoulent avant que le rétablissement complet soit acquis. Mais, même pour de tels cas, on ne saurait parler d'une phase chronique de la maladie. La theilériose évolue strictement sous la forme



aiguë, et si elle laisse après elle, chez certains animaux, des séquelles qui retardent longtemps la guérison définitive, le fait s'explique par l'importance des altérations hépatiques, car-



FIG. 25. — Theilériose expérimentale : Pétéchies de l'épicarde (sillon interventriculaire).

diaques, rénales et spléniques qu'elle détermine. Au surplus, la possibilité du passage de la maladie à l'état chronique est infirmée à la fois par la disparition totale et définitive des parasites dans les jours qui suivent la défervescence et par l'immunité vraie que l'accès confère aux animaux guéris. Ces

deux caractères séparent nettement la theilériose des autres piroplasmoses et la rapprochent au contraire des grandes septicémies aiguës des bovidés, la fièvre charbonneuse et la peste bovine, par exemple. L'étude des lésions organiques qu'elle

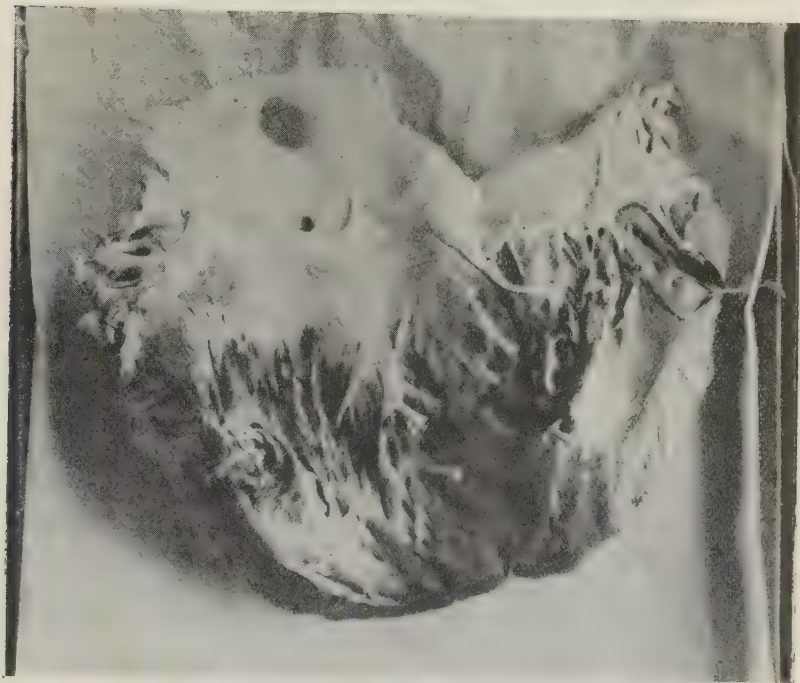


FIG. 26. — Theilériose expérimentale : Pétéchies de l'endocarde (cœur gauche).

provoque fournit d'ailleurs d'autres arguments en faveur d'une pareille comparaison.

*Du point de vue anatomo-pathologique*, l'intensité des altérations organiques varie suivant la gravité et la durée de la maladie. En particulier, l'émaciation, la pâleur des masses musculaires, la fluidité du sang y sont proportionnées. Le cœur est presque toujours le siège de *suffusions sanguines* sous-épica-diques soit en nappes étendues, situées vers la pointe ou sur les oreillettes, soit en traînées de petites ecchymoses rondes, échelonnées le long des sillons vasculaires. Dans les deux tiers des cas, les mêmes ecchymoses se retrouvent dans l'endocarde

gauche et, exceptionnellement dans le cœur droit, de préférence au niveau des piliers. On constate souvent de la dégénérescence du myocarde. Tous les organes hématopoïétiques sont altérés.



FIG. 27. — Theilériose expérimentale : Ictus blancs du rein.

La *rate* subit une hypertrophie considérable qui en double ordinairement le poids et parfois le quintuple. Les *ganglions lymphatiques*, entourés ou non d'un œdème gélatineux et sanguinolent, sont également hypertrophiés, succulents ou hémorragiques à la coupe, quelquefois même réduits à l'état de



bouillie (ganglion rétrohépatique). La *moele osseuse* conserve sa consistance normale, mais il arrive qu'elle présente des zones de congestion ou encore un piqueté hémorragique très net. Du côté des poumons, on constate soit de la congestion simple, soit, plus rarement, de l'œdème, exceptionnellement, quelques infarcti. La muqueuse de la *caillette*, de l'*intestin grêle*, du *gros intestin* peuvent présenter de la congestion, des



FIG. 28. — Theilériose naturelle : Autopsie d'un bovin en plein bled.  
Hypertrophie considérable de la rate.

ecchymoses ou de véritables ulcérations atteignant jusqu'à un centimètre de diamètre (gastro-entérite hémorragique). Le *foie*, volumineux, de couleur violacée, est piqueté, moucheté ou marbré par des hémorragies sous-capsulaires. Les bords, tranchants à l'état normal, deviennent mousses; sa consistance est diminuée. A la coupe, le parenchyme apparaît de teinte ocre (coloration caractéristique) et laisse échapper une abondante quantité de sang, signe d'une congestion intense. La *vésicule biliaire*, parfois énorme, contient une bile noirâtre, épaisse et grumeleuse. L'*ictère* est observé une fois sur trois autopsies environ. Le rein, assez souvent enveloppé d'un œdème géla-

tineux et sanguinolent, est congestionné soit en totalité, soit au niveau des arcades vasculaires des pyramides. On peut y voir des ictus sous-capsulaires, des infarcti occupant toute une pyramide ou encore des hémorragies importantes à l'intérieur du bassinnet ou même des ictus blancs identiques à ceux que l'on a signalés dans la theilériose sud-africaine. Les capsules surrénales sont toujours congestionnées ou enflammées. *La vessie* renferme habituellement une grande quantité d'urine claire



FIG. 29. — Theilériose expérimentale : Hypertrophie de la rate (poids : 2.850 grammes).

ou, assez rarement, brunâtre; il s'agit toujours alors d'hématurie. Les sels biliaires n'ont été décelés qu'une fois, dans un cas de theilériose grave. Chez des sujets qui ont présenté des troubles nerveux au cours de l'accès, on trouve de la congestion des méninges et de l'encéphale.

Les lésions histologiques, tout à fait analogues à celles qui caractérisent les septicémies hémorragiques microbiennes, sont surtout du type inflammatoire : congestions, hémorragies, foyers diapédétiques se retrouvent dans tous les organes et prédominent au niveau du foie, des reins, de la rate et des ganglions lymphatiques. Dans le foie, la diapédèse s'effectue

principalement dans les espaces portes où elle forme de véritables nodules toxi-infectieux ; elle peut y devenir assez considérable pour relier entre eux certains de ces espaces et individualiser ainsi les lobules hépatiques. On constate en même temps des hémorragies intralobulaires, de la tuméfaction et de la vacuolisation des cellules du parenchyme. Dans les reins, la diapédèse a toujours lieu dans la tunique des vaisseaux, en dehors des glomérules et des tubes urinifères qui demeurent intacts. Des foyers diapédétiques énormes constituent les ictus blancs ; les gros ictus rouges et les infarctus résultent de thromboses artérielles. La rate et les ganglions lymphatiques sont le siège d'une abondante hyperplasie des cellules blanches et d'hémorragies disséminées ou diffuses, plus ou moins étendues, qui en bouleversent la structure.

Dans la pratique courante, le *diagnostic* clinique de la theilériose à *Th. dispar* comporte peu de difficultés pour qui en a vu évoluer quelques cas. La répartition géographique de la maladie, la saison, les circonstances météorologiques fournissent déjà des éléments d'appréciation : en Algérie, la theilériose existe en certains points (pâturages humides, par exemple) et jamais dans certains autres d'une même contrée ; elle sévit surtout pendant la saison chaude (juillet et août) ; souvent de grosses épizooties éclatent aussitôt après des périodes de siroco. L'abattement, le larmolement, les pétéchies conjonctivales, les adénites et l'hyperthermie réalisent un syndrome caractéristique. La ponction du foie sur le vivant, inoffensive et d'une technique simple, et l'examen du sang (à un moindre degré, puisque les formes intraglobulaires peuvent manquer) permettent un diagnostic microscopique de certitude. Sur le cadavre, l'aspect du foie, si particulier, l'hypertrophie de la rate et des ganglions viscéraux, la présence de pétéchies ou de suffusions sanguines sur le cœur, la caillette, l'intestin, les reins ne permettent guère la confusion. La recherche des corps en grenade sur des frottis d'organes (foie, ganglions viscéraux, rate, rein) est possible jusqu'à six heures après la mort. Passé ce délai, ces formes parasitaires disparaissent, détruites. Il faut donc pratiquer des étalements de sang, prélevé dans un vaisseau sous-cutané : souvent, les formes intraglobulaires et même des corps en grenade y sont décelables.



Le *pronostic* de la theilériose est généralement grave. Si l'on ne peut, actuellement du moins, donner la proportion exacte des cas de mort provoqués par la maladie naturelle en Algérie, nous savons qu'elle cause, au cours de certains étés, de véritables hécatombes parmi les bovidés algériens entretenus au pâturage ou même gardés en stabulation. Sur 102 animaux infectés de theilériose expérimentale au laboratoire, 20 sont morts de leur accès. Ils ont succombé de seize à trente-huit jours après l'inoculation infectante et du deuxième au dix-neuvième jour de l'accès. Signalons à cet égard que de deux virus d'origine différente, utilisés pour nos expériences, l'un a donné une infection mortelle dans 6 p. 100 des cas environ, l'autre 12 fois sur 14. La régularité du rythme respiratoire et du rythme cardiaque, la durée de l'hyperthermie, l'intensité de l'abattement et de l'anémie fixent le pronostic individuel. L'examen microscopique permet de prévoir l'issue fatale de l'accès, lorsqu'il révèle la présence de corps en grenade dans le sang circulant.

Divers essais de *traitement* (par la quinine, l'émétique, le trypanoblu) se sont montrés inefficaces. Le sérum des bovins hyperimmunisés contre la theilériose, injecté préventivement ou curativement, a paru favoriser la guérison des malades.

Ainsi que nous l'avons déjà indiqué, la theilériose n'est jamais suivie d'un stade d'infection chronique. On n'observe ni rechutes thermiques ni rechutes parasitaires chez les animaux guéris, si long que soit le temps d'observation (jusqu'à dix-huit mois).

Le virus (formes intraglobulaires) peut passer de la mère au fœtus au cours de l'accès (1 cas).

#### C. ETUDE MORPHOLOGIQUE DU VIRUS.

1° *Corps en grenade*. — Les corps en grenade (= *plasmakugeln* de R. Koch) de *Th. dispar* rappellent, dans leurs caractères essentiels, les éléments similaires du cycle évolutif de *Th. parva*, tels que R. Gonder les a décrits. Ils sont de deux sortes : 1° corps libres ou intraleucocytaires, à cytoplasme alvéolaire, se colorant en bleu pâle par le Giemsa, et à grains de chromatine inégaux et anguleux, de nombre variable (agamontes

de Gonder); 2° corps libres ou intraleucocytaires, à cytoplasme plus dense, de teinte plus foncée, et à granulations chromatiques plus petites, rondes ou ovales, se colorant en rouge sombre (gamontes de Gonder). Les corps en grenade libres, généralement de forme ronde, mesurent de  $1\ \mu$  à  $15\ \mu$  de diamètre ( $8\ \mu$  en moyenne). Certains, allongés, atteignent jusqu'à



FIG. 30. — Injection sous-cutanée au point d'élection, chez le bœuf, pour les grandes quantités de liquide.

$27\ \mu$ . Ils sont plus volumineux que les corps en grenade de *Th. parva* (dimension moyenne:  $6\ \mu$ ; minimum:  $2\ \mu\ 8$ ; maximum:  $7\ \mu\ 7$ , d'après une préparation de Gonder).

Les corps en grenade intraleucocytaires, ronds ou ovalaires au début, se disposent en croissant autour du noyau du leucocyte à mesure qu'ils grandissent. Les grains de chromatine des *agamontes*, irrégulièrement polygonaux et pourvus d'un point rouge sombre comparable à un nucléole (Gonder), mesurent  $1\ \mu$  à  $1\ \mu\ 5$ . Le même élément peut en contenir plusieurs dizaines. Les grains de chromatine des *gamontes*, bien arrondis, mesurent de  $0\ \mu\ 3$  à  $0\ \mu\ 5$ ; leur nombre dépasse souvent la centaine à l'intérieur d'un même corps en grenade.



FIG. 31. — *Theileria dispar* :  
Corps en grenade (agamontes) libres et intraleucocytaire.





FIG. 32. — *Theileria dispar* : En haut : corps en grenade (gamontes). L'un des gamontes essaime ses gamétocytes. En bas : formes intraglobulaires caractéristiques de *Th. dispar* (types II a 1, II a 2).

Sur des animaux vivants, en accès de theilériose, la recherche des corps en grenade par le moyen des ponctions exploratrices a montré la présence de ces corps : 15 fois sur 100 dans les ganglions externes, 28 fois sur 100 dans la rate et 94 fois dans le foie. Les ponctions négatives du foie concernent des animaux atteints d'une infection légère. Aux autopsies, des corps en grenade ont été trouvés, avec une fréquence variable, dans tous les organes. Leur présence dans le foie est constante.

2° *Formes intraglobulaires.* — Les formes intraglobulaires de *Th. dispar* (= gamétocytes de Gonder) ressemblent beaucoup, pour la plupart, aux formes de *Gonderia mutans* et l'on peut les ranger suivant les mêmes types. Toutefois, il y a lieu de créer des types nouveaux (II a 1, II a 2 = formes en épingle ou en virgule) pour des éléments qu'on ne rencontre pas parmi les *G. mutans* et, inversement, de supprimer les types II A 1 et II A 2 (bâtonnets à noyau étiré) et les types III m et III f (bâtonnets trapus) qui n'existent pas chez *Th. dispar*.

Les formes intraglobulaires de *Th. dispar* se répartissent donc ainsi :

1° *Formes anaplasmoï les* (OA, OAX), de 0  $\mu$  5 de diamètre environ, et qui comptent pour 0,7 p. 100 dans le nombre total des parasites du sang périphérique ;

2° *Formes rondes* (OAA, OAAA, IA, IAA, IAX), de dimensions moindres que les éléments analogues de *G. mutans* (diamètre moyen : 1  $\mu$  2 ; maximum : 1  $\mu$  5 ; minimum : 0  $\mu$  5) ; = 50 p. 100.

3° *Formes en ellipse* (IBO, IB, IBX, IBXX), plus petites que les éléments analogues de *G. mutans* (longueur moyenne du grand axe : 1  $\mu$  4 ; maximum : 2  $\mu$  ; minimum : 1  $\mu$  2), = 41,6 p. 100. La forme en montgolfière (IBO), à chromatine punctiforme, est particulièrement fréquente.

4° *Formes en bâtonnet.* — Le type II a 1, tout à fait comparable à une épingle, est constitué par un mince tractus rectiligne de cytoplasme et par un grain de chromatine punctiforme. Sa longueur moyenne est de 1  $\mu$  6. On en compte 4 p. 100. Le type II a 2, en virgule ou en coup d'ongle, à chromatine punctiforme et à cytoplasme curviligne, mesure 1  $\mu$  5. On en compte 3,5 p. 100. Au total, les formes en bâtonnet représentent le 7,5 p. 100 du nombre total des parasites.

5° *Formes en croix* (IC) = 0,2 p. 100.

On peut compter, dans la theilériose à *Th. dispar*, jusqu'à 4.920 parasites pour 1.000 globules rouges (en moyenne 140 p. 1.000). L'infection multiple d'un même globule rouge n'est pas rare : on voit jusqu'à 8 parasites, de type différent, dans une hématie (1).

#### D. ETUDE EXPÉRIMENTALE DU VIRUS.

1° La voie d'introduction du virus (sous-cutanée, veineuse ou péritonéale) ne semble exercer aucune influence sur la gravité de l'infection conférée.

2° Contrairement à ce qui se passe avec le virus sud-africain (*Th. parva*), l'inoculation de sang périphérique a toujours transmis l'infection (54 résultats positifs sur 54 expériences).

3° Contrairement à ce qui se passe avec *Gonderia mutans*, la dose inoculée n'a pas d'influence sur l'intensité de la maladie, non plus que sur la durée de la période d'incubation. De très petites quantités de sang (0 c.c. 5) peuvent suffire à la contamination.

4° Les éléments constitutifs du sang séparés par centrifugation (globules rouges, globules blancs, plasma) transmettent isolément l'infection (1 expérience) [la séparation, bien entendu, n'est pas parfaite].

5° L'inoculation de fragments d'organes broyés (foie, rate, ganglions) est infectante comme l'inoculation de sang.

6° L'inoculation à deux bovins indemnes du produit de filtration de 1.200 cent. cubes de sang virulent à travers la bougie Chamberland L1 ne les a pas infectés.

7° Les passages successifs du virus par bovin ne modifient pas sa virulence.

8° Prélevé six jours après la défervescence de l'accès de theilériose, le sang s'est montré virulent dans 1 cas sur 2.

9° Le virus du sang s'est conservé virulent pendant deux jours à 0°, sept jours à 14°, deux jours à 28° et pendant sept

(1) Dans la maladie naturelle, le nombre des parasites peut dépasser 4.300 pour 1.000 G. R. On a pu voir jusqu'à 22 parasites dans le même globule rouge.



heures à 35°-38°. Gardé durant quatorze jours à — 5° et durant quatorze jours à 14°, il n'a plus été infectieux.

10° Les formes endoglobulaires n'apparaissent pas *in vitro* à 18°, dans du sang prélevé sur un bovin au début de son accès de theilériose. L'évolution des corps en grenade n'a donc pas lieu hors de l'organisme.

#### E. IMMUNITÉ.

Parmi 103 bovins inoculés, nous avons trouvé un cas d'*immunité naturelle* (veau de la race d'Aubrac, âgé de quinze mois, tout récemment importé de France). Trois inoculations successives n'ont pu lui donner la maladie. Les jeunes bovins sont aussi sensibles à la theilériose que les animaux plus âgés.

Contrairement à ce que l'on observe dans les autres piroplasmoses d'Algérie, une atteinte de theilériose confère aux sujets guéris une *immunité vraie*, stérilisante, solide et durable. 21 animaux réinoculés une ou plusieurs fois (certains jusqu'à 12 fois en dix-huit mois) n'ont présenté aucune récurrence, thermique ou parasitaire. L'immunité semble acquise à partir du quinzième jour qui suit la défervescence (4 expériences). Une réinoculation pratiquée pendant la période d'incubation n'exerce aucune influence sur la marche de l'accès ultérieur de theilériose.

#### V. — ANAPLASMA MARGINALE (Theiler, 1910).

##### A. ISOLEMENT DU VIRUS.

Nous avons pu obtenir *Anaplasma marginale* à l'état de virus pur en utilisant le procédé du passage par mouton, découvert par Lignières. Un mouton, inoculé avec le sang d'un veau algérien parasité à la fois par *P. bigeminum*, *B. berbera*, *G. mutans* et *Anaplasma marginale*, est réfractaire aux trois premiers virus, mais conserve le quatrième; le sang de ce mouton, prélevé deux mois plus tard, donne seulement l'anaplasmose à un bovin indemne (1).

(1) Sur 38 bovins de race indigène ou française, nés en Algérie, 18, âgés de huit mois à deux ans, ont été reconnus atteints d'anaplasmose naturelle. *A. marginale* fut décelé soit par l'examen microscopique direct, soit par l'inoculation du sang de ces animaux à des bovins indemnes.

## B. DESCRIPTION DE L'INFECTION PURE.

L'infection pure à *A. marginale* (virus algérien) se traduit par un accès aigu de première invasion, suivi d'un stade d'infection chronique de longue durée.

I. ACCÈS DE PREMIÈRE INVASION. — L'accès aigu de première invasion est caractérisé tantôt par un accès fébrile et un accès parasitaire concomitants (20 cas), tantôt uniquement par un accès parasitaire (13 cas).

a) *Accès thermique*. — La fièvre, quand elle existe, apparaît après une période d'incubation plus ou moins longue : de 10 à 60 jours (28 jours en moyenne). Elle dure de 1 à 44 jours (10 jours en moyenne). Généralement irrégulière, elle est coupée de nombreuses rémittences et intermittences, pour peu qu'elle se prolonge. Le maximum de température atteint varie entre 40° et 41°6; il est d'autant plus élevé que l'accès parasitaire est plus violent.

b) *Accès parasitaire*. — L'intervalle de temps qui sépare l'inoculation infectante de l'apparition des premiers parasites dans le sang périphérique varie de 4 à 60 jours (24 jours en moyenne).

L'accès parasitaire proprement dit, pendant lequel des anaplasmes sont constatés chaque jour, sans interruption, dans le sang périphérique, dure de 5 à 63 jours (29 jours en moyenne); le nombre maximum de parasites varie de 12 à 434 pour 1.000 globules rouges (130 ‰, en moyenne).

Les parasites apparaissent le plus souvent avant la fièvre (11 cas) ou encore en même temps qu'elle (8 cas). Rarement, l'accès thermique précède l'accès parasitaire. Enfin, l'accès parasitaire est toujours plus long que l'accès thermique.

L'anémie est constante et généralement intense à la suite de l'accès de première invasion. La perte en globules rouges oscille entre 700.000 et 5 millions. L'anisocytose, souvent très marquée, commence au fort de l'accès aigu et peut persister jusqu'à 40 jours. Le diamètre moyen des hématies est augmenté et reste tel jusqu'à plus de trois mois après la fin de l'accès. On note en outre de la poecilocytose, la présence dans

le sang périphérique d'hématies ponctuées (12 fois sur 17) et de corps en pessaire et de la *leucocytose*. L'augmentation du

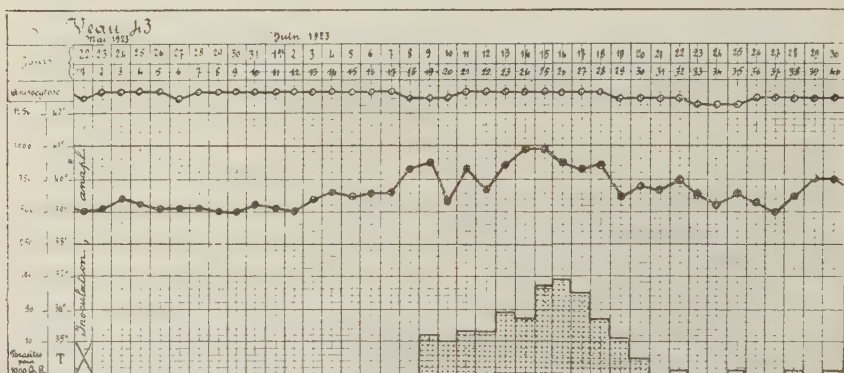


FIG. 33. — Anaplasmosé : Accès de première invasion. Incubation courte.

nombre des leucocytes est de 1.000 à 10.000 par millimètre cube de sang.

Du point de vue clinique, l'anaplasmosé se traduit surtout par des signes d'anémie progressive, déjà appréciables quelques jours après le début de l'accès; les muqueuses pâlisent et

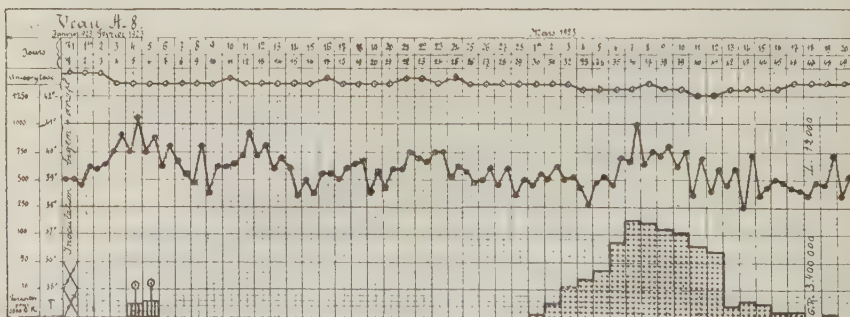


FIG. 34. — Anaplasmosé : Accès de première invasion. Incubation de durée moyenne (l'animal a été inoculé simultanément de *P. bigeminum* et de *A. marginale*).

*P. bigeminum* : traits verticaux.

*A. marginale* : pointillé.

deviennent bientôt d'un blanc porcelaine ou, rarement, subictériques. Malgré la conservation de l'appétit, l'animal ne cesse de maigrir. L'atonie du rumen, constante, entraîne toujours



l'indigestion chronique du feuillet (1). Les urines restent normales.

L'évolution de la maladie est toujours longue et la convalescence lente ; après les accès intenses, les animaux mettent plusieurs mois à recouvrer leur état primitif. La croissance des jeunes est interrompue. Certains malades atteignent un degré très marqué de misère physiologique (poil terne et piqué, émaciation des masses musculaires, flanc creux, disparition du coussinet orbitaire, etc.).

Le *pronostic* de l'anaplasmose est en général grave en raison de la mort possible, de la longue durée de la maladie et de ses conséquences économiques : indisponibilité pour le travail, impossibilité de l'engraissement, risque de saisie des animaux abattus pour la boucherie, retards dans la croissance des jeunes. La mort succède le plus souvent à l'épuisement et à la cachexie ; elle survient parfois au fort de l'accès de première invasion. Nous l'avons observée deux fois sur 34 animaux, à la suite d'inoculations expérimentales.

L'accès de première invasion de l'anaplasmose expérimentale est d'un pronostic particulièrement sombre lorsqu'il succède à court intervalle à l'accès aigu d'une piroplasmose différente, la theilériose en particulier.

Pour remédier à la profonde anémie de l'anaplasmose, nous avons essayé de traiter quelques animaux par la transfusion sanguine, mais nous nous sommes heurtés à de graves inconvénients ; on sait, en effet, que la transfusion sanguine cause très souvent des accidents dans la race bovine.

*Du point de vue anatomo-pathologique*, les altérations organiques produites par *A. marginale* consistent, à l'origine, en des lésions d'anémie auxquelles s'ajoutent, dans les cas où la maladie se prolonge, celles de la cachexie aqueuse. Le sang et les muscles sont pâles, les ganglions lymphatiques hypertrophiés et œdématisés, la rate très augmentée de volume, ainsi que le foie, devenu pâle et friable. La vésicule biliaire contient un liquide pâteux, vert foncé. On observe quelquefois de l'ictère. Le rein, très pâle, montre un piqueté hémorragique sous-cortical plus ou moins important. La moelle osseuse, de

(1) La maladie est souvent appelée « feuillet » par les éleveurs algériens qui ont observé depuis longtemps la surcharge de ce réservoir digestif.

consistance normale au début, avec piqueté hémorragique, devient gélatineuse à la longue. Le contenu du feuillet est toujours desséché. Enfin, des œdèmes gélatineux se forment dans les grandes séreuses, le tissu conjonctif périganglionnaire et interfasciculaire des muscles.

II. STADE D'INFECTION CHRONIQUE. — L'accès aigu de première invasion de l'anaplasmose est toujours suivi d'un état d'infection chronique, qui se manifeste par la réapparition, à intervalles plus ou moins éloignés, de parasites toujours rares dans

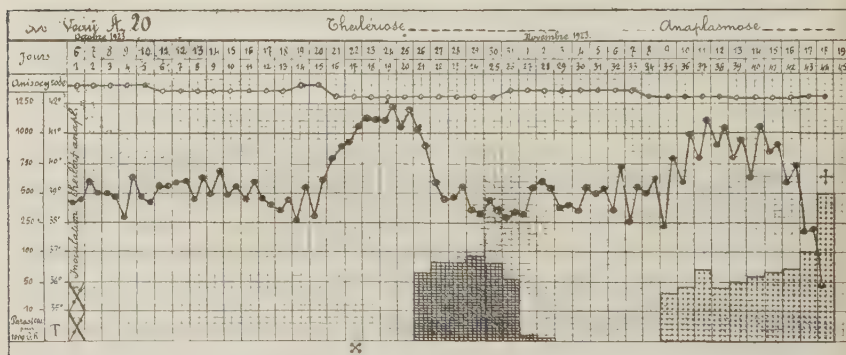


FIG. 33. — Accès mortel d'anaplasmose après un accès de theilériose.  
*Theileria* : quadrillé; *Anaplasma* : pointillé.

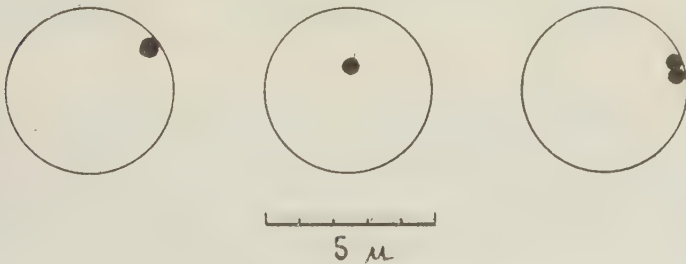
le sang périphérique. Ces réapparitions ne s'accompagnent jamais d'élévation de la température. Le nombre de jours pendant lesquels les anaplasmes sont ainsi constatés varie, suivant les animaux, de 1 à 22 par mois.

Le parasitisme du sang périphérique présente au printemps (de février à mai), chez certains infectés (7 sur 18), une recrudescence nette. Les *rechutes printanières* durent de 5 à 21 jours, avec un maximum de parasites de 4 à 20 pour 1.000 globules rouges.

L'infection chronique peut rester absolument latente pendant plus de six mois; elle ne provoque aucun trouble de l'état général. Nous l'avons vue persister jusqu'à 29 mois au moins.

C. ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DE *Anaplasma marginale*.

Les parasites présentent toujours la forme de petits grains régulièrement ronds, situés à l'intérieur ou sur la marge des globules rouges et que teintent fortement les couleurs basiques. Par le Giemsa, ils prennent une couleur foncée, prune, assez semblable à celle que nous avons signalée pour certains éléments de *Babesiella berbera*. Leur diamètre (d'après la morphométrie de 26.811 anaplasmes) varie de  $0\ \mu\ 3$  à  $0\ \mu\ 8$  ( $0\ \mu\ 55$  en moyenne). Les quatre cinquièmes sont

FIG. 36. — *Anaplasma marginale*.

De gauche à droite : élément marginal, élément central, élément double.

situés sur le bord même du globule rouge; les autres occupent à l'intérieur de l'hématie une situation plus ou moins centrale. Cette proportion de 1 anaplasme central pour 4 anaplasmes marginaux se retrouve chez tous les animaux infectés (36). Nous ne sommes donc pas fondés à distinguer en Algérie une variété marginale et une variété centrale d'*Anaplasma*, correspondant par ailleurs à des modalités cliniques différentes de la maladie.

L'infection des globules rouges est le plus souvent simple, parfois double, au fort de l'accès de première invasion, plus rarement triple et exceptionnellement quadruple. Il semble bien que la multiplication des parasites s'opère par simple division binaire.

## D. ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DU VIRUS.

a) Les différentes voies d'inoculation, sous-cutanée, intraveineuse et péritonéale, donnent des résultats analogues



b) L'incubation est d'autant plus courte, l'accès de première invasion d'autant plus long et le nombre de parasites d'autant plus élevé, que la quantité de virus inoculée est plus abondante.

c) La piqûre d'une aiguille portant des traces de sang virulent suffit à contaminer un animal sain (1 cas).

d) Pendant les premiers jours de la période d'incubation, le virus n'existe qu'en petite quantité dans le sang. Il y peut même manquer (2 cas) et c'est là ce qui rend possible l'emploi de la méthode des passages successifs rapides pour séparer *P. bigeminum* et *B. berbera* de l'anaplasme auquel on les trouve souvent associés. Mais la virulence du sang périphérique devient constante, à mesure que l'on approche du début de l'accès de première invasion.

e) Les organes internes (foie, rate, ganglions lymphatiques) des animaux en état d'infection chronique peuvent être (1 cas) ou n'être pas infectants (3 cas). L'infection transmise par un organe interne d'un bovin (ganglion) est moins grave que l'infection provoquée par l'inoculation contemporaine du sang périphérique du même animal (1 cas). Cette constatation confirme les données acquises en ce qui concerne l'influence de la quantité de virus inoculée sur la marche de l'accès de première invasion.

f) *Anaplasma marginale* ne traverse pas la bougie Chamberland F, sous une pression de 5 centimètres de mercure (1 expérience).

g) Ainsi que Lignières l'a montré, *A. marginale* est transmissible au mouton. L'inoculation intraveineuse du virus ne détermine chez cet animal ni fièvre ni autres symptômes morbides et l'infection reste absolument latente (1). Le sang du mouton conservateur d'anaplasmes s'est montré virulent pour le bœuf après deux mois; il ne l'était plus au bout de six mois. Un essai de passage de mouton à mouton, effectué le quatrième mois, a donné un résultat négatif.

h) Les passages successifs d'*A. marginale* par bovins ou de mouton à bovin ne déterminent pas d'exaltation apparente de sa virulence.

(1) On a pu voir des grains anaplasmoïdes, d'identité douteuse, dans le sang périphérique d'un mouton inoculé d'anaplasme depuis six mois.

i) *In vitro*, et à 12°, *A. marginale* se conserve vivant et très virulent pendant quatorze jours au moins. Des essais de culture à 37° dans du sang citraté n'ont montré aucune multiplication du parasite.

#### E. IMMUNITÉ ET PRÉMUNITION.

Nous n'avons observé aucun cas d'immunité naturelle à l'égard de *A. marginale*. Les jeunes animaux ne sont ni plus, ni moins réceptifs que les animaux plus âgés.

Si l'on réinocule avec *A. marginale* des bovins en état d'infection chronique, tantôt la marche de l'infection n'est pas influencée (12 cas) et tantôt on observe un accès parasitaire, toujours apyrétique (5 cas).

L'incubation de l'accès parasitaire de réinoculation varie de dix à trente jours (vingt-trois jours en moyenne). Les parasites réapparaissent dans le sang périphérique pendant quatorze à quarante et un jours (vingt-quatre jours en moyenne) et leur nombre maximum oscille entre 3 et 30 p. 1.000 globules rouges (15 p. 1.000 en moyenne).

L'accès de réinoculation n'est jamais aussi intense que l'accès de première invasion et ne s'accompagne d'aucun trouble morbide. On en doit conclure que l'infection chronique à *A. marginale* entraîne la prémunition des animaux atteints, comme l'infection chronique à *P. bigeminum* et à *B. berbera*. L'état de prémunition ne s'établit qu'un certain temps après la fin de l'accès de première invasion : il n'existe pas encore au cours même de l'accès (1 observation).

#### VI. — DÉTERMINATION SPÉCIFIQUE DES PIROPLASMES D'ALGÉRIE.

La détermination spécifique des piroplasmes algériens découle de la comparaison de leurs caractères morphologiques respectifs, de l'évolution des infections pures qu'ils produisent et de l'épreuve des réinoculations croisées de Laveran et Mesnil. Elle est corroborée par l'étude des réactions que provoque l'inoculation, successive ou simultanée, des différents parasites à un même animal.

## I. ÉTUDE COMPARÉE DES CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES

Le tableau ci-dessous réunit les principaux éléments de détermination qui permettent déjà de considérer les 5 piroplasmes comme spécifiquement distincts les uns des autres.

TABLEAU COMPARATIF DES CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES (1).

	ANAPLAS- MOIDES	ANNEAUX	ELLIPSES	POIRES	BATONNETS		FORMES en croix	CORPS en grenade
					Noyau long	Noyau rond		
<i>P. bigeminum.</i>								
P. 100. . . .	1	2	30	67	"	"	"	"
Taille. . . .	1 $\mu$ 2	3	3 $\mu$ 6 $\times$ 2 $\mu$	3 $\mu$ 2 $\times$ 1 $\mu$ 7	"	"	"	"
<i>B. berbera.</i>								
P. 100. . . .	4	59	13	24	"	"	"	"
Taille. . . .	0 $\mu$ 9	1 $\mu$ 5	1 $\mu$ 9 $\times$ 1 $\mu$	1 $\mu$ 9 $\times$ 1 $\mu$	"	"	"	"
<i>G. mutans.</i>								
P. 100. . . .	0,4	20	35,6	"	42	"	2	"
Taille. . . .	0 $\mu$ 9	de 1 à 2 $\mu$	2 $\mu$ 4 $\times$ 0 $\mu$ 8	"	2 $\mu$ 4	"	1 $\mu$ 5	"
<i>Th. dispar.</i>								
P. 100. . . .	0,7	50	41,6	"	"	7,5	0,2	"
Taille. . . .	0 $\mu$ 5	1 $\mu$ 2	1 $\mu$ 4	"	"	1 $\mu$ 6	1 $\mu$ 5	"
<i>Anaplasma marginale.</i>								
P. 100. . . .	100	"	"	"	"	"	"	"
Taille. . . .	0 $\mu$ 5	"	"	"	"	"	"	"

Il en ressort que, soit par la configuration, soit par la taille, soit par la proportion relative des diverses formes d'évolution, aucun des parasites ne peut être confondu avec ses voisins.

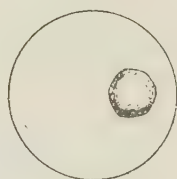
(1) Les formes de division sont classées avec les formes définitives auxquelles elles ressemblent.



*Piroplasma*  
*bigeminum*



*Babesiella*  
*berbera*



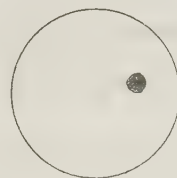
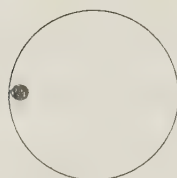
*Gonderia*  
*mutans*



*Theileria*  
*dispar*



*Anaplasma*  
*marginale*



5  $\mu$

FIG. 37. — Morphologie comparée des Piroplasmes d'Algérie.

## II. ÉTUDE COMPARÉE DES INFECTIONS PURES.

Les infections provoquées par les piroplasmes algériens, isolés à l'état de virus purs, offrent entre elles des dissemblances nettes, que l'on considère la durée de l'incubation, la durée de l'accès aigu de première invasion, les symptômes cliniques de la maladie ou ses conséquences du point de vue de la résistance de l'organisme à de nouvelles contaminations (immunité vraie, simple prémunition). Ces dissemblances sont mises en lumière par le deuxième tableau comparatif suivant :

TABLEAU COMPARATIF DES INFECTIONS PURES.

	INCURATION		ACCÈS AIGU		INFECTION chronique	IMMUNITÉ	PRÉMUNITION
	thermique (en jours)	parasitaire (en jours)	thermique (en jours)	parasitaire (en jours)			
<i>Piroplasma ligeminum</i> . .	5	5	4	6	+	»	+
<i>Babesiella berbera</i> . . .	6	7	7	6	+	»	+
<i>Gonderia mutans</i> . . . . .	»	31	8 à 40		+	0	0
<i>Theileria dispar</i> . . . . .	17	18 (corps en grenade) 21 (formes intraglob.)	5	5  6	0	+	»
<i>Anaplasma marginale</i> . .	28	24	10	29	+	»	+

## III. ÉPREUVE DES RÉINOCULATIONS CROISÉES (1).

L'épreuve des réinoculations croisées, de Laveran et Mesnil, appliquée aux 5 piroplasmoses algériennes, a montré qu'aucun

(1) Avant de procéder à l'épreuve de la réinoculation croisée, nous avons eu soin de vérifier l'état de prémunition ou d'immunité des sujets à l'égard d'un premier virus par une deuxième inoculation de ce premier virus.

des virus étudiés ne protège contre les autres. Il y a donc lieu de les considérer définitivement comme des espèces parasitaires distinctes.

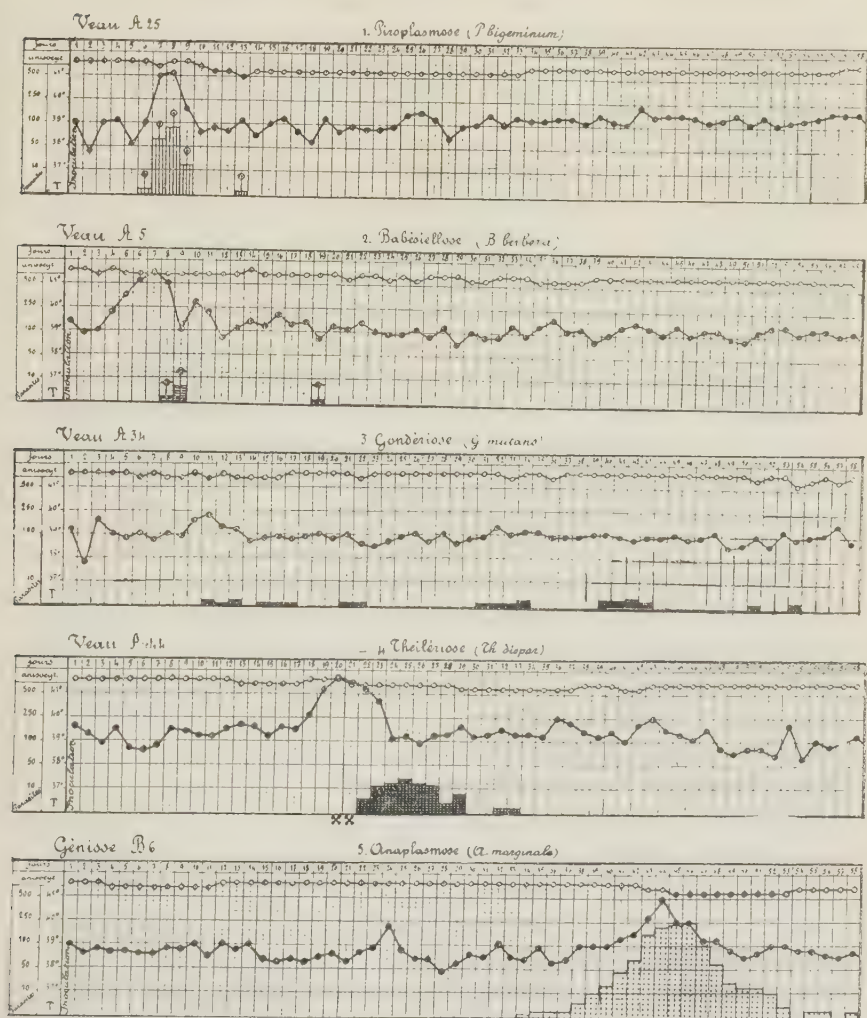


FIG. 38. — Tableau comparatif de la marche de l'infection dans les cinq piroplasmoses algériennes.

Le détail des expériences de réinoculation croisée auxquelles nous avons procédé peut être résumé comme suit :

NOMBRE DE BOVINS restés sensibles à	PRÉMUNIS CONTRE			IMMUNISÉS contre <i>Th. dispar.</i>	INFECTÉS de <i>G. mutans</i>
	<i>P. bige- minum</i>	<i>B. berbera</i>	<i>A. margi- nale</i>		
<i>P. bigeminum</i> . . . .	0 sur 36	18 sur 18	17 sur 17	5 sur 5	26 sur 26
<i>B. berbera</i> . . . .	29 sur 29	4 sur 88	20 sur 20	10 sur 10	23 sur 23
<i>A. marginale</i> . . . .	24 sur 24	19 sur 19	0 sur 17	9 sur 9	29 sur 29
<i>Th. dispar</i> . . . .	61 sur 61	38 sur 38	33 sur 33	0 sur 37	51 sur 51
<i>G. mutans</i> . . . .	21 sur 21	20 sur 20	18 sur 18	2 sur 2	14 sur 29

A ces résultats généraux, nous devons joindre la relation d'expériences complémentaires précisant les caractères biologiques du *P. bigeminum* algérien, l'identité spécifique de *B. berbera* et de *Th. dispar* et, plus particulièrement, les rapports de ce dernier parasite avec *G. mutans*.

A. ÉTUDE COMPARÉE DE DEUX SOUCHES ALGÉRIENNES DE *P. BIGEMINUM*. — Nous avons pu nous procurer deux souches différentes de *P. bigeminum* algérien : l'une originaire des environs immédiats de la ville d'Alger, l'autre provenant de la région de Sétif, distante de 300 kilomètres. L'épreuve des réinoculations croisées a montré que ces deux souches sont identiques : l'une prémunit contre l'autre (2 expériences).

B. ÉTUDE COMPARÉE DU *P. BIGEMINUM* ALGÉRIEN ET D'UNE SOUCHE SUD-AMÉRICAINNE DE *P. BIGEMINUM*. — Avec des larves de *Margarus australis*, que nous a très obligeamment procurées le professeur Brumpt, nous avons infecté de *P. bigeminum* (en même temps que de *B. argentina* [Lignières]) d'origine sud-américaine, un bovin français indemne, de race pure. L'inoculation intraveineuse du sang de cet animal, à 5 bovins prémunis contre *P. bigeminum* algérien et à un veau neuf, a déterminé un accès thermique et un accès parasitaire à *P. bigeminum* aussi bien chez les 5 premiers bovins que chez le témoin. On peut conclure de cette épreuve que le *P. bigeminum* sud-amé-



ricain et le *P. bigeminum* algérien se sont comportés comme des virus différents : l'un ne prémunit pas contre l'autre.

C. IDENTITÉ SPÉCIFIQUE DE *BABESIELLA BERBERA*, NOV. SP. — Dans le genre *Piroplasma*, Patton, Max Luhe, en 1906, a distingué deux espèces que Du Toit, en 1918, a élevées au rang de sous-genres : le sous-genre *Piroplasma* (*sensu stricto*) d'une part, caractérisé par la prédominance des parasites de grande taille, en poires bigéminées, mesurant en moyenne 3  $\mu$  et, d'autre part, le sous-genre *Babesia*, caractérisé par la prédominance des formes rondes dont la taille ne dépasse qu'exceptionnellement 2  $\mu$  5. En 1919, Mesnil, analysant le travail de Du Toit, a proposé de substituer au terme *Babesia*, préoccupé puisque employé antérieurement pour désigner des bactéries, celui de *Babesiella*. Nous adoptons cette terminologie et, à l'exemple de Du Toit, séparons, à l'intérieur du genre *Piroplasma*, les *Piroplasma* (s. str.) des *Babesiella*.

On a décrit plusieurs espèces de *Babesiella* : en Europe, *B. bovis* (Babès), à qui la plupart des auteurs assimilent *B. divergens* (Mc Fadyean et Stockman, 1911) (1); en Amérique, *Babesiella argentina* (Lignières). Le piroplasma algérien du sous-genre *Babesiella*, que nous avons étudié, se sépare des deux précédents par plusieurs caractères d'ordre morphologique et d'ordre biologique.

*B. berbera* diffère de *B. bovis* par :

a) Sa rareté habituelle dans le sang périphérique des animaux en accès aigu ;

b) L'absence de formes marginales coiffant les globules rouges ;

c) L'inefficacité constante du trypanoblu.

*B. berbera* diffère de *B. argentina* par :

a) La bénignité constante de la maladie expérimentale ;

b) L'anémie qu'il détermine à la suite des accès aigus ;

c) L'inefficacité constante du trypanoblu ;

d) L'absence de pouvoir prémunisant contre *P. bigeminum*.

Le tableau suivant résume ces données différentielles :

(1) Il semble qu'on doive, au moins provisoirement, rattacher à *B. bovis* le parasite décrit par Sohns, aux Indes néerlandaises, sous le nom de *Microbabesia divergens* (1918).

	<i>B. bovis</i> <i>divergens</i>	<i>B. argen-</i> <i>tina</i>	<i>B. ber-</i> <i>bera</i>
	—	—	—
Fréquence dans le sang des parasites.	abondants	rare	rare
Divergence des parasites . . . . .	+	+	+
Situation marginale des parasites . .	+	0	0
Gravité de la maladie expérimentale .	0	+	0
Anémie . . . . .	+	0	+
Action du trypanobléu . . . . .	0 (1) + (2)	+	0
Prémunition contre <i>P. bigeminum</i> . .	(1)	+	0

Avec le virus sud-américain mixte (*P. bigeminum* + *B. argentina*) envoyé par le professeur Brumpt, nous avons comparé, par la méthode des réinoculations croisées, *B. berbera* à *B. argentina* (4). Les expériences, et surtout l'interprétation des résultats obtenus, ont été souvent difficiles, d'abord du fait du mélange de *P. bigeminum* et de *B. argentina*, et aussi par suite de la rareté habituelle, ou même de l'absence fréquente, de *B. argentina* comme de *B. berbera* dans le sang périphérique des animaux, au fort de leur accès de première invasion. En particulier, il n'a pas toujours été possible de déterminer si l'accès thermique provoqué par l'inoculation du virus mixte était dû uniquement à *B. argentina* ou à l'action synergique des deux parasites.

Quoi qu'il en soit, le sang d'un bovin infecté à la fois par le *P. bigeminum* sud-américain et par *B. argentina* a été inoculé à 5 bovins prémunis contre *B. berbera* et à deux bovins neufs. Tous ces animaux ont réagi à l'inoculation par un accès thermique. Parmi les cinq premiers, trois ont présenté un accès parasitaire à *Babesiella*; des deux veaux neufs témoins, un seul a eu un accès parasitaire à *Babesiella*. Ces deux témoins, réinoculés quatre mois plus tard de *B. berbera*, ont accusé l'un et l'autre un accès thermique et un accès parasitaire.

On peut conclure de cette double épreuve que *B. argentina* d'origine sud-américaine et *B. berbera* d'Algérie se sont com-

(1) D'après Mc Fadyean et Stockman.

(2) D'après Moussu et Saint, cités par Brumpt. Expériences allemandes d'après Knuth et Du Toit.

(3) D'après Brumpt.

(4) Brumpt a assimilé à *B. argentina* des parasites de petite taille vus chez une génisse tunisienne, à la suite d'expériences faites à Paris avec des larves infectieuses de *Margaropus australis* et avec du sang de deux animaux ayant une infection aiguë à *P. argentinum* (*Annales de Parasitologie*, 1, 1923, p. 23).

portés comme des virus différents : l'un n'a pas prémuni contre l'autre, et réciproquement.

**D. IDENTITÉ SPÉCIFIQUE DE *THEILERIA DISPAR*. SES RAPPORTS AVEC *GONDERIA MUTANS*.** — Nous avons indiqué précédemment les caractères majeurs qui séparent *Theileria dispar* de *Theileria parva* de l'Afrique australe (virulence du sang périphérique, anémie, hypertrophie de la rate).

Une très intéressante observation de Brumpt (1), relative à un accès de theilériose survenu en France chez un bovin atteint de gondériose chronique d'origine tunisienne, a amené notre collègue à formuler l'opinion suivante : l'accès de theilériose (en ce qui concerne du moins le virus nord-africain) est un accès pernicieux à *G. mutans*, apparaissant au cours d'une gondériose chronique. Le cycle évolutif de *G. mutans* comportant des corps en grenade, visibles au cours des accès pernicieux, ce parasite doit être rangé parmi les *Theileridæ* et le genre *Gonderia* disparaître. L'étude comparative de *Th. dispar* et de *G. mutans* à laquelle nous nous sommes livrés nous conduit à une conclusion opposée : il s'agit bien de deux parasites distincts. Et voici, brièvement indiquées, les observations et les expériences qui nous paraissent justifier une telle affirmation :

a) *Morphologie*. — 1. Nous n'avons jamais vu de *corps en grenade* dans les organes ou dans le sang périphérique des bovins, en dehors des accès de theilériose.

2. Le nombre des parasites intraglobulaires du sang périphérique n'est jamais aussi élevé dans la gondériose (maximum : 90 p. 1.000 globules rouges, moyenne : 21 p. 1.000) que dans la theilériose (maximum : 1.920 p. 1.000 globules rouges, moyenne : 140 p. 1.000). En outre, le nombre des parasites logés à l'intérieur d'un même globule rouge n'atteint jamais, dans la gondériose, les chiffres fréquemment constatés dans la theilériose.

3. La proportion relative des deux grands groupes de formes intraglobulaires (en anneau, d'une part, et en bâtonnet, d'autre part) n'est pas la même dans la gondériose et dans la theilériose :

(1) *Annales de Parasitologie*, 4, 1923, p. 16-53.

	<i>Theileria</i>	<i>Gonderia</i>
	—	—
Formes rondes ou en ellipse. . . .	91 p. 100	55 p. 100
Formes en bâtonnet . . . . .	7 p. 100	42 p. 100

Certaines formes intraglobulaires propres à la theilériose (parasites en épingle et en virgule, à noyau punctiforme) ne se rencontrent pas dans la gondériose. Inversement, certaines formes propres à la gondériose (bâtonnets droits ou incurvés à noyau bacilliforme) n'existent pas dans la theilériose.

b) *Pathologie*. — 1. La gondériose, dans les 59 cas naturels ou expérimentaux que nous avons suivis pendant plusieurs mois, s'est toujours comportée comme une infection chronique, apyrétique, sans cycle parasitaire bien défini, peu ou, le plus souvent, point anémiant. Cette infection chronique présente des périodes de latence et des périodes de rechutes (rechutes printanières en particulier) de durée variable. Les réinoculations peuvent donner lieu à des accès parasitaires aussi intenses que les accès de première invasion, qui témoignent de l'absence d'immunité. Enfin, les 59 bovins chroniquement infectés de *G. mutans* n'ont jamais montré d'accès, pernicieux ou autre, comparable à l'accès de la theilériose. Plusieurs d'entre eux ont été soumis cependant à des causes d'affaiblissement du fait soit des intempéries, soit de l'alimentation, soit de maladies intercurrentes.

2. Au contraire, dans tous les cas observés (102 au laboratoire), la theilériose a été une maladie grave et anémiant, caractérisée par un cycle thermique et parasitaire constant, dont l'incubation et la durée ne varient que dans de très faibles limites. Elle ne passe jamais à l'état chronique et laisse après elle une immunité solide et durable. Ces divers caractères se sont conservés sans modification au cours de 22 passages successifs.

c) *Expérimentation*. — 1. La réinoculation de *Theileria dispar* à des bovins immunisés par une atteinte antérieure de theilériose ne provoque jamais de surinfection parasitaire (37 observations). C'est pourtant ce qui devrait se produire dans un certain nombre de cas, si *Theileria dispar* et *G. mutans* étaient un même parasite; nous avons vu, en effet, que la réinoculation de *G. mutans* à des animaux atteints de gondériose chronique



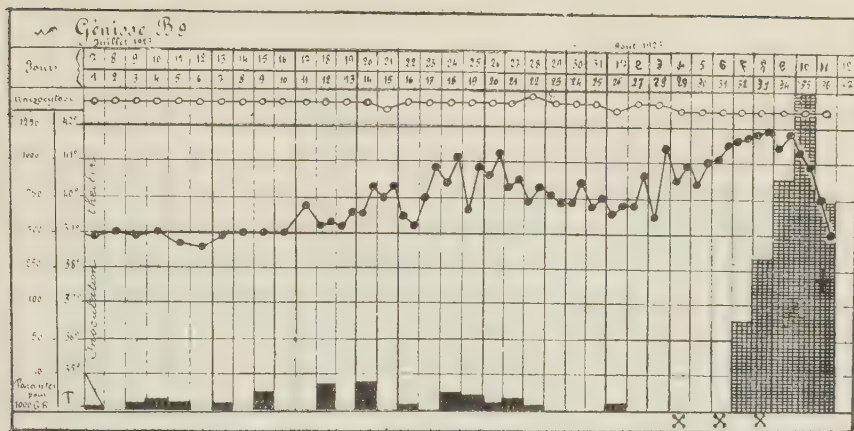


FIG. 39. — Accès mortel de theilériose chez un bovin atteint de gondériose chronique.  
*Gondertia* : en noir; *Theileria* : quadrillé. Les croix au-dessous du graphique signalent les corps en grenade.

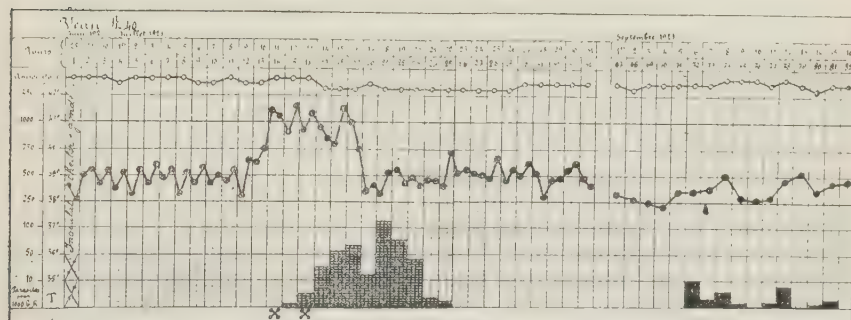


FIG. 40. — Inoculation simultanée de *Th. dispar* et de *G. mutans* à deux bovins, l'un réceptif, l'autre non réceptif à la theilériose et indemnes tous les deux de gondériose. Le premier contracte les deux infections; le second prend seulement la gondériose. *Gondertia* : en noir; *Theileria* : quadrillé; X X = corps en grenade dans le foie.

produit un accès parasitaire 14 fois sur 29, soit dans 50 p. 100 des cas.

2. Les inoculations de *Th. dispar* ne sont jamais suivies d'infections atténuées, apyrétiques et chroniques d'emblée, comparables à la gondériose. Les accès de theilériose les plus légers restent pathognomoniques.

3. Les inoculations simultanées de *Gonderia mutans* et de *Th. dispar* donnent lieu à des infections contemporaines ou successives de gondériose et de theilériose, qui évoluent chacune comme si elle était seule.

4. Si l'on inocule simultanément *Th. dispar* et *G. mutans* à un veau neuf et à un veau possédant l'immunité naturelle contre *Th. dispar*, seul, le veau neuf s'infecte de theilériose; les deux animaux prennent la gondériose (1 observation).

5. De même, si l'on inocule simultanément *Th. dispar* et *G. mutans* à 2 bovins, l'un immunisé contre la theilériose mais indemne de gondériose, l'autre neuf à l'égard des deux maladies, le premier contracte seulement la gondériose; le second contracte les deux infections (1 observation).

6. Les formes intraglobulaires de *Th. dispar*, si voisines, du point de vue morphologique, de *G. mutans*, ne transmettent ni la theilériose, ni la gondériose. Exemple :

La vache B 7, indemne de gondériose, met bas prématurément, au cours d'un accès de theilériose, une génisse qui, dès sa naissance, présente des formes intraglobulaires du type *Theileria* (12 pour 1.000 globules rouges; la mère, au même moment, en a 83 pour 1.000). La génisse est sacrifiée. On ne trouve aucun corps en grenade dans ses organes internes. On inocule un veau neuf, par la voie péritonéale, avec 50 grammes de foie et 50 grammes de rate de cette génisse. Le veau, examiné pendant trois mois, n'a montré aucun signe d'infection.

Il n'est pas douteux que si les petites formes intraglobulaires, passées à travers le filtre placentaire, avaient appartenu au cycle de *G. mutans*, le veau inoculé aurait accusé de la gondériose.

7. En partant d'un virus *Theileria dispar* + *Gonderia mutans*, nous sommes parvenus, grâce à la méthode des passages successifs rapides, à obtenir au septième passage le virus *Theileria* à l'état pur : 2 bovins français, ayant eu un accès de theilériose pure, examinés quotidiennement pendant un temps supérieur à la plus longue incubation connue de *G. mutans*, n'ont jamais montré de formes appartenant à cette espèce para-

sitaire. Un tel isolement n'aurait pu évidemment être réalisé si *Th. dispar* et *G. mutans* étaient identiques.

8. Rappelons enfin que, d'après l'épreuve des réinoculations

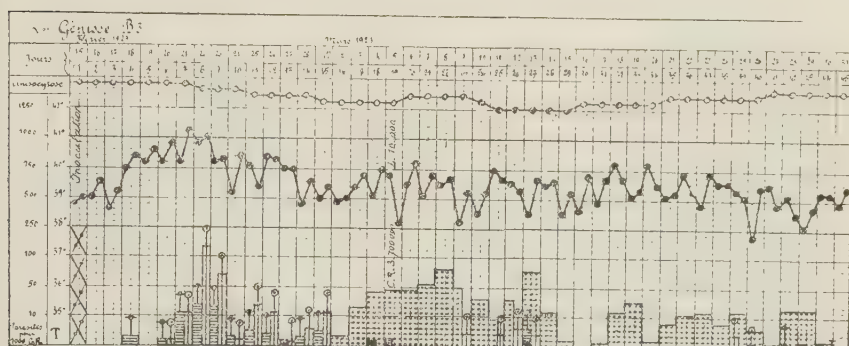


FIG. 41. — Inoculation simultanée de *P. bigeminum* : traits verticaux ;  
*B. berbera* : traits horizontaux ;  
*G. mutans* : en noir ; *A. marginale* : pointillé. (Guérison.)

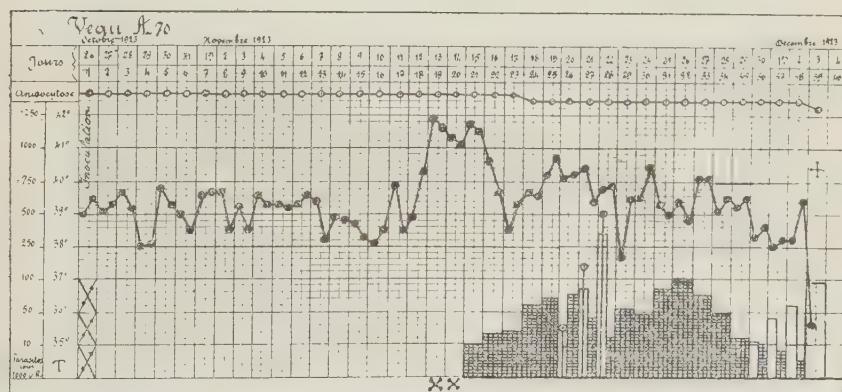


FIG. 42. — Inoculation simultanée de *P. bigeminum* : traits verticaux ;  
*Th. dispar* : quadrillé ; *A. marginale* : en blanc. (Mort).

croisées, la theilériose n'immunise pas contre la gondériose, et réciproquement.

#### IV. RÉACTION D'UN MÊME ANIMAL AUX INOCULATIONS SUCCESSIVES OU A L'INOCULATION SIMULTANÉE DES DIFFÉRENTS VIRUS.

a) *Inoculations successives.* — Aucun des virus algériens ne protégeant contre les autres, les inoculations échelonnées des

différents parasites à un même animal déterminent les mêmes phénomènes que les inoculations isolées. Toutefois, deux veaux inoculés : l'un de *B. berbera*, l'autre de *P. bigeminum* peu après une atteinte d'anaplasmose, ont présenté une réaction très atténuée.

*b) Inoculations simultanées.* — Lorsqu'on inocule plusieurs virus en même temps à un même animal (*P. bigeminum* + *B. berbera* + *G. mutans* + *A. marginale* ou *P. bigeminum* + *G. mutans* + *Th. dispar*, par exemple), les infections apparaissent successivement dans l'ordre que commande la durée de leurs incubations respectives, et avec les mêmes caractères que les infections pures. Mais la succession à court intervalle, chez le même animal, de deux infections fortement anémiantes comme la theilériose et l'anaplasmose peut avoir des résultats funestes.

\*  
\* \*

En résumé, les observations et expériences dont nous venons de donner la substance nous conduisent à définir comme suit les diverses piroplasmoses algériennes :

1° La *piroplasmose* proprement dite, due à *Piroplasma bigeminum*, est caractérisée par un accès aigu, fébrile et parasitaire, de cinq à six jours, succédant à une courte période d'incubation (quatre-cinq jours) et suivi d'un stade d'infection chronique de longue durée qui comporte la prémunition.

2° La *babésiellrose*, due à *Babesiella berbera*, est caractérisée par un accès aigu, fébrile et parasitaire, de six à sept jours, succédant à une courte période d'incubation (cinq-six jours) et suivi d'un stade d'infection chronique de longue durée qui comporte la prémunition.

3° La *gondériose*, due à *Gonderia mutans*, est une infection sans maladie vraie. Généralement chronique d'emblée, de longue durée, elle ne comporte ni immunité, ni prémunition.

4° La *theilériose*, due à *Theileria dispar*, est caractérisée par un accès aigu, fébrile et parasitaire, d'une durée de un à quatorze jours, succédant à une période assez longue d'incubation (dix-sept jours en moyenne) et suivi d'un état d'immunité vraie.

5° L'*anaplasmose*, due à *Anaplasma marginale*, est caracté-



risée par un accès parasitaire d'une durée de un mois en moyenne, accompagné ou non d'une fièvre irrégulière, succédant à une longue période d'incubation (un mois environ) et suivi d'un stade d'infection chronique qui comporte la prémunition.

\*  
\* \*

Dans un prochain mémoire, nous exposerons les conclusions pratiques de nos recherches en ce qui concerne la prophylaxie des mêmes piroplasmoses.

*(Institut Pasteur d'Algérie.)*

## SUR LA VARIABILITÉ DE LA FERMENTATION LACTIQUE

par AUGUSTE LUMIÈRE.

Dans un précédent mémoire (1), nous avons montré que les irrégularités observées dans la fermentation lactique par tous les auteurs qui ont étudié ce phénomène avant nous n'étaient dues qu'à des erreurs de technique.

M. H. Cardot, sans contester les résultats expérimentaux que nous avons apportés à l'appui de cette affirmation, a bien voulu discuter l'interprétation que nous avons donnée de ce fait et a formulé des commentaires (2) que nous sommes heureux d'enregistrer parce qu'ils vont nous permettre de préciser quelques points du problème sur lesquels nous n'avions pas suffisamment insisté pour être bien compris.

Notre aimable contradicteur cherche d'abord à expliquer et à justifier l'insuffisance de la méthode employée par les bactériologistes qui s'étaient occupés antérieurement de la question. Nous sommes parfaitement d'accord avec lui pour reconnaître les difficultés d'une technique qui comporte des conditions expérimentales complexes et délicates et qui réclame des précautions que l'on n'est pas habitué à prendre en microbiologie, parce qu'elles exigent des mesures et des dosages relevant plutôt du domaine de la physique et de la chimie que de celui de la biologie.

Nous comprenons d'autant mieux que nos devanciers aient pu se tromper que, dans notre longue carrière d'expérimentateur, nous n'avons pas échappé à la loi commune et qu'il nous est arrivé de commettre parfois des confusions analogues.

Il n'est point aisé, en effet, de tenir compte de tous les

(1) AUG. LUMIÈRE, Contribution à l'étude de la fermentation lactique et des propriétés des microbes. Ces *Annales*, décembre 1923, p. 967-987.

(2) H. CARDOT, Sur l'irrégularité des fermentations lactiques. Quelques remarques sur les critiques de M. A. Lumière. Ces *Annales*, décembre 1923, p. 988-996.

facteurs d'un essai, avec leurs valeurs absolues et relatives, pour l'évaluation desquelles nous manquons souvent d'étalon ou de terme de comparaison.

Indépendamment de cette justification, M. Cardot, après une longue discussion de notre travail, mais sans apporter aucun fait expérimental nouveau, a estimé qu'il pouvait énoncer la conclusion suivante :

« Nous croyons que les diverses cellules d'une culture  
« homogène ne sont pas rigoureusement semblables entre  
« elles et que leur dissemblance s'accuse quand elles viennent  
« d'être mises en contact avec certains toxiques. Notre conviction est basée avant tout sur le fait suivant : en présence  
« d'un toxique, une souche normale donne, dans les cultures,  
« des irrégularités plus fortes qu'une souche accoutumée. On  
« ne peut qu'être surpris que notre contradicteur, qui s'est si  
« longuement attardé sur des causes d'erreur que nous avons  
« déjà signalées, n'ait tenu aucun compte de cette constatation  
« fondamentale. C'est elle pourtant qui devrait être discutée  
« et contrôlée, en restreignant, autant qu'il est nécessaire, le  
« nombre de germes déposés dans les cultures. »

Tout d'abord, nous n'avons point affirmé que toutes les cellules d'une culture homogène étaient semblables, ce qui eût été une absurdité; il y a dans une même culture des cellules jeunes dont la vitalité est maxima, puis des microbes usés, épuisés et même des cadavres bacillaires inactifs. Il est évident que ces divers éléments ne jouissent pas de propriétés identiques.

Ce que nous avons avancé, c'est que si l'on prélève, *ainsi que l'ont fait nos prédécesseurs*, des lots d'ensemencement comprenant des milliers ou des millions de microbes, ces lots, contrairement à ce qu'ils ont indiqué, se comportent de la même manière et fournissent toujours les mêmes quantités d'acide lactique quand on ne commet pas de fautes de manipulation.

D'autre part, si, comme nous le reproche M. Cardot, nous n'avons pas tenu compte du fait fondamental sur lequel il base son opinion, à savoir qu'en présence d'un toxique, une souche normale donne, dans les cultures, des irrégularités plus grandes qu'une souche accoutumée, c'est que nos expériences nous ont

démontré que ce fait était péremptoirement inexact et enfin, si nous nous sommes permis de nous attarder longuement sur les causes d'erreur, *dont certaines avaient été déjà signalées* par M. Richet et ses collaborateurs, c'est parce que ces auteurs n'en ont point saisi l'importance et n'ont pas réussi à y remédier. Contrairement à l'opinion de M. Cardot, nous n'avons pas encore assez insisté sur ces causes d'erreur puisque notre précédent travail n'a point réussi à le convaincre, alors que nos investigations prouvent que c'est uniquement dans la technique qu'il faut chercher la clef de la variabilité fermentative au lieu d'accuser le microbe.

Il n'y a pas plus d'irrégularités dans la fermentation en présence des toxiques qu'en milieu normal, que l'on s'adresse à des souches accoutumées ou non aux poisons.

En voici d'ailleurs les preuves expérimentales que tout bactériologiste pourra vérifier s'il veut se donner la peine de prendre les précautions que nous avons indiquées dans notre précédent mémoire.

#### Premier point : Influence du nombre de germes sur la régularité de la fermentation.

Le professeur Richet et ses élèves ont remarqué que les variations dans leurs dosages d'acide lactique, pour une même série de cultures, qu'ils croyaient avoir traitées de la même manière, étaient plus accusées au début de la fermentation et M. Cardot paraît attribuer, en partie, la constance de nos résultats au fait que nous avons introduit, dans nos bouillons, un nombre de germes d'ensemencement relativement important.

Alors que ces auteurs ensemençaient leurs milieux avec une goutte de culture de quarante-huit heures, nous avons utilisé dix gouttes d'une dilution obtenue en ajoutant 5 cent. cubes de culture mère à 100 cent. cubes de bouillon; c'est-à-dire que notre souche d'ensemencement était vingt fois moins concentrée que celle qui était employée d'autre part; en prenant dix gouttes de notre dilution, correspondant à une demi-goutte de la culture initiale, nous avons opéré, en somme, approxima-



tivement avec deux fois moins de microbes que ces expérimentateurs.

Si la quantité de semence influait sur la régularité de la fermentation, nous nous serions donc trouvé dans des conditions défavorables; or, nos dosages ont toujours donné des nombres constants pour une même série de cultures.

Nous avons d'ailleurs soumis à un contrôle systématique l'influence du nombre de germes d'ensemencement; pour cela, nous avons pris une souche normale de quarante-huit heures sur laquelle nous avons effectué des prélèvements de 5 cent. cubes que nous avons dilués dans 10, 25, 50, 100 et 1.500 cent. cubes de bouillon.

Voici quelques-uns des résultats enregistrés après seize heures d'étuve à 37° (ensemencement de chaque tube avec dix gouttes de culture diluée).

DEGRÉ DE DILUTION de la culture mère	NOMBRE DE CENTIMÈTRES CUBES de solution de KOH à 2 pour 1.000 pour saturer l'acide formé
1/3 5 cent. cubes de culture pour 10 de bouillon.	Les 20 tubesensemencés ont exigé 6 c. c. 9.
1/10 5 cent. cubes de culture pour 50 de bouillon.	Sur 20 tubes.ensemencés, 19 ont exigé 5 c. c. 6 et 1, 5 c. c. 5.
1/20 5 cent. cubes de culture pour 100 de bouillon.	Sur 20 tubesensemencés, 19 ont exigé 5 c. c. 2 et 1, 5 c. c. 1.
1/300 5 cent. cubes de culture pour 1.500 de bouillon.	Les 20 tubesensemencés ont exigé 2 c. c. 1.

Nous avons voulu pousser plus loin encore cette recherche, en prélevant 5 cent. cubes de la dernière dilution à 1/300, pour les étendre à 100 et 1.000 cent. cubes de façon à avoir, en fin de compte, des milieux d'ensemencement renfermant seulement 6.000 et 60.000 fois moins de germes, à volume égal, que la culture initiale. Dans ces conditions, nous avons dû prolonger le séjour à l'étuve pendant quarante-huit heures, afin que la quantité d'acide formée soit suffisante.

Les dosages ont donné les nombres ci-après :

*Culture mère diluée à 1/6.000 (5 cent. cubes de culture à 1/300 dans 100 cent. cubes de bouillon) :*

NOMBRE DE CENTIMÈTRES CUBES DE KOH NÉCESSAIRES  
POUR SATURER L'ACIDITÉ (18 TUBES)

6,2	6,4	7,7
6,2	6,4	7,7
6,2	6,4	7,7
6,2	7,2	7,7
6,2	7,7	7,7
6,2	7,7	7,7

*Culture mère diluée à 1/60.000 (3 cent. cubes de culture dans 1 litre de bouillon)*

NOMBRE DE CENTIMÈTRES CUBES DE KOH NÉCESSAIRES  
POUR SATURER L'ACIDITÉ (20 TUBES)

5,9	6,4	7,3
5,9	6,4	7,3
5,9	6,4	7,3
6,4	6,4	7,3
6,4	6,9	7,3
6,4	7,3	7,3
6,4	7,3	

Nous voyons qu'en employant toujours notre même technique, qui assurait la parfaite régularité de la fermentation lorsque les lots de microbes d'ensemencement étaient constitués par un grand nombre de germes, nous n'obtenons plus la même constance dans les dosages quand ce nombre se trouve considérablement réduit; les irrégularités observées par nos devanciers reparaissent de nouveau.

Devions-nous pour cela attribuer ces variations au micro-organisme? Nous ne l'avons pas pensé et nous avons supposé que notre technique, suffisante lorsqu'il s'agissait de larges ensemencements, n'était plus assez précise quand on opérait sur des cultures très diluées.

Notre attention s'est portée d'emblée sur le manque d'homogénéité de la culture mère et nous avons pu nous rendre compte aussitôt que les micro-organismes n'étaient pas uniformément répartis dans toute la masse du milieu cultural. A côté de bacilles isolés, on y rencontrait effectivement des amas plus ou moins importants de microbes et il était évident qu'après une grande dilution, ces amas, éminemment variables,

pouvaient intervenir pour modifier notablement les proportions relatives de microbes d'ensemencement.

Nous avons alors cherché à homogénéiser la culture mère en l'agitant fortement pendant plusieurs minutes, puis nous l'avons soumise à une centrifugation modérée qui a permis d'éliminer les amas les plus importants.

En prélevant, pour ensemençer, le liquide séparé du culot par décantation et agité une fois encore afin de rendre toutes ses parties aussi homogènes que possible, nous avons pu, de nouveau, constater une plus complète régularité de la fermentation.

Voici d'ailleurs les nombres fournis par quelques dosages effectués avec ces nouvelles précautions :

*Culture mère diluée à 1/6.000 :*

Sur 20 tubes ensemençés :

16 ont présenté une acidité de 8,7  
4 — — — 8,6

*Culture mère diluée à 1/60.000 :*

NOMBRE DE CENTIMÈTRES CUBES DE KOH POUR SATURER L'ACIDITÉ.

8,2	8,2	8,4	8,6
8,2	8,2	8,4	8,6
8,2	8,3	8,5	8,6
8,2	8,3	8,5	8,6

La formation d'acide lactique, qui est devenue constante dans les tubes ensemençés avec la culture à 1/6.000, présente encore des irrégularités quand la dilution est portée à 1/60.000.

Attribuant encore les variations observées à l'insuffisante homogénéité de la culture, nous avons prolongé l'agitation de cette dernière et accentué sa centrifugation; nous avons ainsi éliminé une grande partie des germes, certainement plus de la moitié, de sorte qu'en fin de compte nous avons utilisé une culture ne renfermant plus environ, à volume égal, que la 1/150.000 partie des germes contenus dans la culture mère.

Les résultats sont alors redevenus parfaitement réguliers.

Dans un premier essai, après trois jours d'étuve, sur 20 tubes, 18 ont exigé 8 c. c. 6 de KOH et 2, 8 c. c. 5, et dans une seconde expérience, l'acidité de tous les tubes a exigé 11 c. c. 1, sauf un seul qui a été saturé par 10 c. c. 9 de la solution potassique.

Dans tous les cas, même en employant 15.000 fois moins de semence que MM. Richet et Cardot (dix gouttes de culture à 1/150.000), la régularité de la prolifération est complète; par conséquent, l'argument du nombre de germes qui nous est opposé n'est pas acceptable.

Nous ne prétendons pas que si l'on parvenait à diluer suffisamment la culture mère pour ne plus avoir qu'un seul micro-organisme dans chaque ensemencement, on ne constaterait pas quelque différence dans la fermentation; il est évident que si l'on tombait, dans l'un de ces cas, sur un cadavre microbien, le milieu resterait stérile, mais il n'est pas prouvé non plus que si l'on réussissait à n'introduire dans chaque tube qu'un seul bacille vivant, toutes les cultures qui en résulteraient ne seraient pas identiques encore. Nous ne voyons pas, pour le moment, comment cette condition pourrait être réalisée. Une telle expérience, d'ailleurs, ne serait nullement comparable à celles sur lesquelles les bactériologistes se sont basés pour affirmer la variabilité de la fermentation lactique, puisque leurs lots d'ensemencement comportaient toujours plusieurs millions de bacilles.

## Deuxième point : Influence des toxiques sur la régularité de la végétation.

L'affirmation qui nous est donnée est la suivante :

En présence de toxiques, les irrégularités de la fermentation sont plus fortes, avec une souche normale, qu'avec une souche accoutumée au poison.

Cela n'est pas exact, car une souche normale ne donne aucune irrégularité en présence de ces toxiques, si l'on se met à l'abri des fautes de manipulation.

Voici le résumé des investigations que nous avons poursuivies dans ce sens :

### a) *Cas du sublimé.*

*Doses faibles de HgCl<sup>2</sup> : 0,0015 p. 100 après 48 heures d'étuve à 37° :*

Sur 50 tubes ensemencés, 49 ont exigé 6 c. c. 7 de KOH, et 1 a exigé 6 c. c. 5.



*Témoins sans sublimé dans les mêmes conditions :*

Tous ont présenté une acidité correspondante à 7 c. c. 1 de KOH.

*Doses plus fortes, 0,002 p. 1.000 après 3 jours d'étuve à 37° :*

Acidité de toutes les cultures sans exception . . . 5 c. c. 3

*A 0,003 p. 1.000 après 3 jours d'étuve à 37° :*

Acidité de toutes les cultures sans exception . . . 2 c. c. 7

Témoins : tous identiques. . . . . 10 c. c. 2

*Après 4 jours d'étuve, une autre série nous a fourni les nombres ci-dessous :*

HgCl<sup>2</sup> à 0,003 p. 1.000 . . . . . 4 c. c. 9

— à 0,004 — . . . . . 3 c. c. 1

— à 0,005 — . . . . . 2 c. c. 7

Témoins. . . . . 9 c. c. 2

Toutes les cultures de chaque série ont montré exactement la même acidité.

La fermentation a donc été toujours parfaitement régulière, aussi bien avec les doses faibles qu'avec les doses fortes de HgCl<sup>2</sup>.

Pour les concentrations en sublimé plus élevées (à partir de 0 gr. 006 p. 1.000), aucune prolifération ne s'est manifestée après six jours d'étuve.

#### b) *Cas du phénol.*

*Doses faibles :*

0,01 p. 1.000 . . . . . 7 c. c. 7 de KOH

0,1 — . . . . . 7 c. c. 6 —

1 — . . . . . 6 c. c. 5 —

Témoins. . . . . 8 c. c. 2 —

Dans chaque série, toutes les cultures ont présenté identiquement la même acidité.

*Doses fortes :*

2 p. 1.000. . . . . 6 c. c. 9 de KOH

3 — . . . . . 4 c. c. 2 —

4 — . . . . . 1 c. c. 6 —

5 — . . . . . Stérile.

Témoins. . . . . 9 c. c. 6 de KOH

#### c) *Cas du nitrate d'argent.*

*Doses p. 1.000 :*

0,001. . . . . 8 c. c. 1 de KOH

0,002. . . . . 7 c. c. 5 —

0,003. . . . . 4 c. c. 4 —

0,008. . . . . Stérile.

Témoins. . . . . 8 c. c. 7 de KOH

Aucune différence d'acidité dans les cultures d'une même série.

Si l'on construit des graphiques représentant la relation entre les quantités d'acide lactique formées et les teneurs en antiseptique, au voisinage de la dose antivégétative, on constate que les tracés sont des lignes droites et qu'il y a par conséquent proportionnalité entre ces facteurs, dans tous les cas.

Ces essais ont été répétés sur des milieux de cultures, avec d'autres toxiques encore, et nous avons toujours vérifié la concordance complète des dosages pour toutes les cultures d'une même série, à part de très rares exceptions dans lesquelles le volume du réactif potassique s'écartait seulement de 1 ou 2 dixièmes de cent. cube de celui qu'exigeaient toutes les autres cultures du même essai. Ces écarts accidentels très minimes, et tout à fait exceptionnels, doivent correspondre sans doute à quelque défaut de manipulation.

La même régularité fermentative se manifeste quand on emploie des micro-organismes ayant végété pendant longtemps dans les milieux toxiques. Les dosages étant toujours identiques, nous nous abstenons de les rapporter ici.

Nous avons repris ces mêmes expériences, en réduisant considérablement le nombre de microbes d'ensemencement, en partant d'une culture normale de quarante-huit heures, diluée avec du bouillon, de façon qu'elle renferme à volume égal 100.000 fois moins de germes que la culture mère, le microbe n'étant pas accoutumé au poison et nous avons encore obtenu la même constance dans nos dosages.

Pour ne citer qu'un exemple : en présence de 0,001 p. 1.000 de sublimé après quarante-six heures d'étuve, sur 20 tubes ensemencés dans ces conditions, 18 ont exigé 3 c. c. 6 de solution de KOH à 2 p. 100 pour être saturés et les deux autres ont présenté seulement une petite différence d'acidité correspondant à quelques dixièmes de centimètre cube de réactif potassique (3 c. c. 9 et 4 cent. cubes au lieu de 3 c. c. 6).

#### d) *Nouvelles objections de M. Richet.*

Dans une note présentée à l'Académie des Sciences, intitulée « Antiseptiques réguliers et irréguliers », M. Richet conteste, d'autre part, nos résultats (1).

(1) Ch. RICHET, Antiseptiques réguliers et irréguliers. *C. R.*, 177, p. 1262.

Ayant répété les expériences de fermentation en présence de sublimé, il n'a point réussi à obtenir la régularité que nous observons nous-mêmes dans tous les cas, et il persiste à prétendre que les variations dans la prolifération microbienne s'accusent d'autant plus que l'on réduit le nombre de microbes d'ensemencement ou que l'on diminue la durée de séjour des cultures à l'étuve.

Il en conclut qu'il n'y a pas lieu de tenir compte de notre travail!

Cette façon expéditive de condamner une expérimentation en désaccord avec la sienne ne saurait être acceptée pour les raisons suivantes :

Si M. Richet estime que nos résultats sont négligeables, c'est qu'il suppose que nous avons opéré d'une manière défectueuse; or, comment expliquer alors qu'en opérant mal, nos essais montrent toujours la plus grande régularité dans les dosages d'acide lactique de chacune de nos séries de cultures, tandis que M. Richet, qui opérerait convenablement, n'obtiendrait que des résultats irréguliers?

Nous avons vu plus haut que, quand on fait varier la proportion de sublimé au voisinage de la dose antivégétative, l'acidité des bouillons devient inversement proportionnelle à la quantité d'antiseptique introduite dans le milieu, toutes les autres conditions de l'expérience demeurant identiques.

Voici d'ailleurs le résumé de deux essais qui font ressortir cette proportionnalité inverse :

DOSE DE SUBLIMÉ p. 1.000	ACIDITÉ après 3 jours d'étuve.	
—	—	
0.0001. . . . .	5.6	} Dans chaque série tous les tubes ont présenté la même acidité à 1/10 de centimètre cube près de solution de KOH à 2 p. 1.000.
0.002. . . . .	4.2	
0.002. . . . .	1.6	
Témoins . . . . .	9.1	
	Après 4 jours d'étuve.	}
	—	
0.003. . . . .	3.8	
0.004. . . . .	2.0	
0.005. . . . .	1.6	
Témoins . . . . .	9.2	

Si l'on représente le phénomène graphiquement, en portant

les doses de HgCl<sub>2</sub> en abscisses et les acidités en ordonnées, on obtient des lignes droites et pour qu'une loi aussi précise se dégage d'un ensemble de mesures expérimentales, il faut nécessairement qu'aucune erreur se soit glissée dans leur détermination.

D'autre part, les expériences mêmes de M. Richet montrent que l'interprétation qu'il donne des faits peut difficilement s'accorder avec la remarque suivante : au début de ses recherches dans la voie qui nous intéresse, et notamment dans un mémoire publié en 1917 (1), cet auteur mentionne un essai qu'il a qualifié plus tard de *belle expérience* (2), dans lequel l'acidité des cultures, en présence de sublimé, a varié de 27,2 à 0, avec toutes les valeurs intermédiaires pour les autres tubes de la même série; l'irrégularité de la fermentation était alors considérable, tandis que, dans ses investigations les plus récentes, M. Richet n'observe, dans des conditions analogues, qu'un écart d'acidité beaucoup plus faible : par exemple, de 4,7 à 10,8 dans un cas et de 8,2 à 10 dans un autre (3).

Comme il n'est pas possible d'admettre que le sublimé ait été un antiseptique plus irrégulier en 1917 qu'il ne l'est en 1923, nous sommes bien forcé d'en déduire que ce sont les manipulations qui ont été mieux conduites en 1923 qu'en 1917, et nous sommes persuadé que si notre éminent contradicteur veut bien faire encore un effort dans la voie où il a déjà commencé à réussir, il pourra constater comme nous la régularité complète de la fermentation, quelle que soit la dose de poison employée, le nombre de microbes d'ensemencement et le moment auquel on arrête la prolifération microbienne.

Pour atteindre ce but, nous devons revenir et insister sur l'un des éléments perturbateurs du problème, élément dont l'importance s'est révélée lorsque nous avons été conduit à utiliser des cultures d'ensemencement très diluées, surtout en présence de sublimé. Nous voulons parler de l'homogénéité de ces cultures, dont nous avons déjà fait entrevoir l'importance plus haut.

C'est par le manque d'homogénéité habituel des souches de

(1) Ch. RICHET, H. CARDOT et P. LE ROLLAND, Des antiseptiques réguliers et irréguliers. *C. R.*, 30 avril 1917.

(2) Ch. RICHET et H. CARDOT. *Ces Annales*, 1919, p. 588.

(3) Ch. RICHET. *C. R.*, 177, p. 1264.



semences que nous pensons pouvoir expliquer, en grande partie tout au moins, les variations qui subsistent encore dans les résultats apportés par les bactériologistes précités.

Les microbes les plus âgés d'une culture finissent par mourir; ils se réunissent alors souvent sous forme d'amas agglutinés, capables de fixer plus facilement le sublimé que les bacilles vivants.

Lorsqu'on dilue la culture, le nombre et la dimension des amas susceptibles d'absorber le chlorure mercurique varient suivant les tubes et si la dilution est poussée assez loin, certains de ces tubes peuvent même n'en point renfermer. L'effet de l'antiseptique s'épuise donc plus ou moins, par combinaison avec certaines matières albuminoïdes qui se trouvent en proportions différentes d'un tube à l'autre, dans les liquides d'ensemencement. Comme les doses de sublimé qui entrent en jeu sont extrêmement minimales (avec 0,001 p. 1.000, chaque tube de 10 cent. cubes de bouillon ne contient qu'un centième de milligramme de HgCl<sub>2</sub>), il suffit de variations extraordinairement faibles, dans les substances susceptibles de réagir sur le poison, pour troubler la constance de l'action antiseptique.

Nous avons institué un programme d'expériences actuellement en cours, en vue de démontrer que telle est bien la cause de certaines irrégularités qui disparaissent d'ailleurs complètement dès que l'on s'adresse, pour pratiquer les ensemencements, à une culture *parfaitement homogène dont les amas floculés ont été soigneusement éliminés par centrifugation*.

M. le professeur Richet conclut de ses essais que le sublimé est un antiseptique infidèle et qu'il faut tenir compte de cette remarque *en chirurgie*. Nous croyons que cette notion, depuis longtemps admise par les chirurgiens, découle plutôt d'un autre ordre de phénomènes. Certaines protéines qui se trouvent au niveau des plaies en proportions variables, selon leur état et leur nature, précipitent en pure perte le sublimé dont le pouvoir bactéricide et les effets sont ainsi rendus inconstants.

#### e) *Cas du nitrate de thallium.*

Pour étudier l'accoutumance des microbes aux poisons, le professeur Richet a eu l'idée de recourir à une substance très

peu répandue dans la nature et en présence de laquelle il n'y ait pas de chance pour que la souche de bacilles lactiques employée se soit jamais trouvée en contact; il a choisi à cet effet, comme toxique rare, le nitrate de thallium.

Nous avons répété les essais précédents avec ce produit qui nous a donné, pour des teneurs faibles, la même régularité de fermentation, mais, à partir d'une concentration déterminée, tout en observant la même constance dans la quantité d'acide lactique formée, pour toutes les cultures d'un même essai, nous avons remarqué qu'il n'y avait plus la proportionnalité inverse normale entre l'acidité et la concentration en poison.

La cause de cette anomalie a été facilement découverte; le thallium est un métal voisin du plomb; son nitrate, en présence des milieux de culture qui renferment toujours des chlorures, se décompose; il se forme du chlorure de thallium qui est très peu soluble, de sorte que si l'on dépasse une certaine dose en  $\text{NO}^3\text{Tl}$  (environ 3 p. 100) et si le milieu se trouve en même temps suffisamment chloruré, toute addition de sel de thallium dépassant la limite de solubilité de ce chlorure devient inefficace par suite de la précipitation de son chlorure.

Lorsque la totalité de l'halogène du bouillon est saturée, les quantités supplémentaires de toxique agissent de nouveau.

En faibles proportions, c'est donc le chlorure de thallium dissous qui joue le rôle de corps antivégétatif, puis, à partir d'une certaine teneur, les quantités plus fortes de  $\text{NO}^3\text{Tl}$  sont inopérantes et enfin, à la suite de la saturation des chlorures, c'est le nitrate lui-même qui intervient comme antiseptique.

Les résultats fournis par cette substance sont donc entachés d'une cause d'erreur nouvelle due à ses propriétés chimiques particulières.

### CONCLUSIONS

Les objections soulevées par M. Cardot et par M. Richet tombent incontestablement devant les résultats expérimentaux que nous apportons.

La fermentation lactique, quand on opère avec une technique rigoureuse, est d'une complète régularité, aussi bien avec des doses faibles de semence microbienne qu'avec des doses fortes,

aussi bien en présence de toxiques qu'en milieux normaux, aussi bien pour des microbes accoutumés aux poisons que pour des microbes non accoutumés, que la fermentation soit arrêtée au bout de quelques heures ou qu'elle soit continuée pendant plusieurs jours.

Les causes des irrégularités toujours observées avant nous provenaient donc uniquement de défauts dans les manipulations. *Ces irrégularités ne se produisent que quand les conditions des expériences ne sont pas identiques.* Il n'y a pas d'antiseptiques irréguliers, toutes les courbes figurant dans les travaux antérieurs et représentant les écarts (absolus, relatifs ou moyens) de la fermentation, en fonction de l'acidité, de la quantité de semence, en présence d'antiseptiques ou en milieu normal, chez les microbes accoutumés ou non aux poisons, ne sont que les courbes des erreurs d'expériences en fonction de ces variables; le microbe n'y est pour rien.

Nos conclusions antérieures se trouvent donc confirmées et renforcées, en tous points, par les nouvelles recherches expérimentales que nous venons de résumer.

## LE BACILLE DE PREISZ-NOCARD CHEZ LA POULE

par

M<sup>lle</sup> LE SOUDIER

et

J. VERGE

docteur  
en médecine.

chef de travaux  
à l'Ecole vétérinaire d'Alfort.

Une épizootie meurtrière de diphtérie aviaire a sévi, il y a quelques mois, dans un grand élevage de volailles de la région parisienne. L'affection s'exprimait sous les trois formes que Staub et Truche ont si bien décrites récemment (1) : forme cutanée ou épithéliomateuse; forme buccale, pseudo-membraneuse avec exsudat nasal ressemblant au début au « roup » des auteurs américains; forme oculaire caractérisée par la tuméfaction du sinus infra-orbitaire et la fonte purulente et progressive de l'œil.

Nous avons réussi à mettre en évidence, à deux reprises différentes, un bacille de Preisz-Nocard chez deux oiseaux atteints.

La première souche, D. II, fut isolée à partir d'une volumineuse collection purulente des sinus infra-orbitaires chez un coq Leghorn. Le second échantillon, D. V, a été obtenu après ensemencement des fausses membranes buccales et laryngées d'une poule Orpington.

Ces deux germes sont d'authentiques bacilles de Preisz-Nocard. Ils en présentent la morphologie (polymorphisme très accentué); les réactions colorantes (micro-organismes prenant le Gram); les nécessités respiratoires et thermiques (germes aéro-anaérobies se développant surtout à 37°); les réactions particulières sur milieux de culture appropriés. Nous les avons comparés, d'ailleurs, à deux souches provenant : l'une de l'Institut Pasteur, l'autre de M. Carré, directeur au laboratoire de recherches du ministère de l'Agriculture.

L'identité a été presque absolue et les légères différences

(1) STAUB et TRUCHE. *C. R. de la Soc. de Biol.*, séance du 3 juin 1922.



apparues au cours de nos recherches ne peuvent infirmer notre diagnostic.

### I. — Morphologie. Cultures. Biochimie.

Les tableaux suivants mettent en lumière les divers caractères des quatre germes que nous avons étudiés :

	RÉACTIONS SUR MILIEUX SPÉCIAUX													
	Glucose	Lévulose	De trine	Maltose	Galectose	Lactose	Inuline	Mannite	Glycérine	Saccharose	Dulcité	I. dol	Gélose-sang détiriné de lapin	Gélose au sous-acétate de plomb
Pasteur.	+	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0	0	Hémolyse nette après 48 h.	0
Carré . .	+	+	0	+	+	0	0	0	+	+	0	0	Hémolyse intense après 24 h.	0
D. II. . .	+	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0	0	Hémolyse en 24 h.	0
D. V. . .	+	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0	0	Hémolyse peu prononcée après 48 h.	0

De plus, la coloration des éléments microbiens D. II et D. V, au moyen d'une solution très diluée de bleu de méthylène, permet de constater au sein du protoplasma bactérien des granulations métachromatiques. Celles-ci apparaissent sous forme de points plus teintés, répartis de préférence aux extrémités du germe. Par contre, le protoplasma restant est très faiblement coloré.

Ces qualités tinctoriales, d'essence si particulière, sont l'apanage d'une certaine catégorie de germes : les corynebactéries auxquelles appartient incontestablement le bacille de Preisz-Nocard ou *Corynebacterium pseudo-tuberculosis ovis* (Preisz). Nos recherches prouvent, par conséquent, que les germes par nous isolés rentrent bien dans ce groupe.

Il nous faut mentionner, toutefois, certaines particularités

VARIÉTÉS	MORPHOLOGIE	CULTURES						
		en bouillon	sur gélose	sur sérum coagulé	en lait tournesol	sur pomme de terre	sur gélatine	sur gélose Veillon
Pasteur . . . . .	Polymorphe très accentué.	Pas de trouble homogène. Grains mûriformes nageant dans le bouillon. Voile sec. Colletterie plissée.	Colonies sèches, jaunâtres. Voile sur l'eau de condensation.	Petites colonies nombreuses, jaunâtres et sèches.	Ni virage, ni coagulation.	Colonies petites, nombreuses, jaunâtres.	Culture en clou. Pas de liquéfaction.	Aéro-anaérobie. Petites colonies irrégulières dans la profondeur. Voile en surface.
Carré . . . . .	Id.	Même aspect que ci-dessus.	Même aspect que ci-dessus.	Colonies sèches, nombreuses, blanchâtres.	Ni virage, ni coagulation.	Même aspect que ci-dessus.	Culture minime sans liquéfaction.	Même aspect que ci-dessus.
D. II . . . . .	Germe très polymorphe: cocci, bâtonnets, bacilles trapus, éléments en masse.	Même aspect que ci-dessus.	Colonies sèches, en relief, jaunâtres. <i>Cultures très luxuriantes.</i>	Colonies sèches, nombreuses, blanchâtres.	Ni virage, ni coagulation.	Colonies fines, bien développées, jaune d'or.	Culture assez abondante, en clou. Pas de liquéfaction.	Développement dans toute la hauteur sous forme de petites colonies noires et irrégulières.
D. V . . . . .	Polymorphe comparable à la souche D. II.	Même aspect que ci-dessus.	Colonies sèches, plissées, blanchâtres, peu abondantes.	Colonies abondantes, sèches et jaunâtres.	Ni virage, ni coagulation.	Colonies fines, à peine apparentes, jaunâtres.	Culture peu abondante. Pas de liquéfaction.	Même aspect que ci-dessus.

relevées au cours de nos cultures : le développement du germe D. II est toujours extrêmement marqué; les colonies s'étalent à la surface de la gélose et envahissent bientôt la totalité du milieu. D. V, par contre, donne des cultures peu abondantes.

Les colonies, portées dans la flamme, provoquent une crépitation caractéristique. Les cultures sur gélose ont une odeur nauséabonde, voire fécaloïde.

Minett, étudiant récemment dix races du bacille de Preisz-Nocard, relate des observations que les nôtres confirment presque entièrement (1). Certaines divergences apparaissent cependant : c'est ainsi que les quatre races que nous avons étudiées poussent légèrement sur pomme de terre, fermentent la saccharose et non la dextrine.

En ce qui concerne l'action sur la glycérine, nous constatons que, le plus souvent (3 fois sur 4), celle-ci n'est pas attaquée. Cela confirme les conclusions d'Ebersson, pour lequel la glycérine est un moyen de différenciation entre *Bacillus flavidus*, qui fermente et *Corynebacterium pseudo-tuberculosis ovis*, qui ne fermente pas.

Sur gélose au sang défibriné de lapin, l'hémolyse est très nette et totale en vingt-quatre à quarante-huit heures. Aucun de nos germes n'a liquéfié la gélatine, alors que Minett nous montre le milieu plus ou moins liquéfié par cinq de ses souches.

## II. — Virulence.

Nous avons étudié la virulence de nos races D. II et D. V, pouvoir pyogène d'une part, pouvoir toxigène d'autre part. Nous avons eu la surprise de trouver des germes presque totalement avirulents, dans les conditions expérimentales que précise le tableau ci-après :

Ces variations dans la virulence ont été signalées il y a quelques années par Carré, lequel a montré que certaines races du bacille de Preisz-Nocard peuvent être parfaitement

(1) MINETT. *Journ. of comparative pathology and therapeutics*, décembre 1922, p. 291.

tolérées dans les organismes et privées en même temps de leur faculté toxigène (1).

ESPÈCES injectées	MODES de l'inoculation	D. II		D. V	
		Pouvoir pyogène	Pouvoir toxigène	Pouvoir pyogène	Pouvoir toxigène
Cobaye.	Cœur.	Nul.	»	Cachexie progressive et mort.	»
	Péritoine.	Id.	Nul.	Nul.	Cachexie et mort en 30 j.
	Sous peau de l'abdomen.	Id.	Id.	Id.	Nul.
Lapin.	Veine auriculaire.	Id.	»	Cachexie progressive, mort après 6 semaines.	»
	Péritoine.	Id.	Nul.	Nul.	Nul.
	Sous peau de l'abdomen.	Id.	Id.	Petit abcès caséux, du volume d'une noisette.	Id.
Poule.	Veine axillaire.	Id.	Id.	Nul.	Id.
	Badigeonnage de la cavité buccale.	Id.	»	Id.	»

N.B. — Tous ces animaux ont été mis en observation durant une période de 60 jours.

### III. — *Intradermo-réaction.*

L'absence de virulence qui caractérise nos deux échantillons microbiens permet peut-être d'expliquer le fait suivant : six poules ou coqs Leghorn, tous atteints de diphtérie — et parmi eux le coq qui nous a fourni le germe D. II — sont inoculés dans le barbillon droit avec 1/10 de cent. cube de toxine du bacille de Preisz-Nocard.

Aucun oiseau n'a réagi à l'injection intradermique. Ce

(1) CARRÉ. *Rev. gén. de méd. vétérinaire*, 15 janvier 1910.



phénomène négatif s'interprète facilement à la lumière des notions nouvellement acquises en matière de diphtérie aviaire.

L'affection, en effet, est très vraisemblablement due à un virus filtrant. Le bacille de Preisz-Nocard est un germe banal, surajouté, sans action pathogène réelle; sa présence dans les fausses membranes de la bouche ou les abcès clos infra-orbitaires s'explique par son extrême abondance dans le milieu extérieur; l'envahissement des lésions n'est que secondaire; le Preisz-Nocard, dans le cas qui nous occupe, se comporte comme un microbe de sortie.

\*  
\* \*

Si le germe de la « suppuration caséuse » a été signalé chez la plupart des espèces domestiques : cheval, bœuf, mouton, porc, etc., peu d'auteurs l'ont identifié chez les oiseaux. Graham Smith semble être un des premiers à l'avoir rencontré chez le dindon, dans le pus des sinus infra-orbitaires (1). Le bacille qu'il réussit à isoler n'était pas pathogène pour le cobaye, ce qui le rapprocherait des nôtres.

Point n'est besoin d'insister longuement sur la ressemblance qui existe, du point de vue morphologique, entre le bacille de la diphtérie humaine et le bacille de Preisz-Nocard. Il nous semble que l'existence de germes authentiques appartenant à cette dernière catégorie, au sein des fausses membranes de la diphtérie aviaire, a pu parfois prêter à confusion avec le véritable bacille de Löffler.

Les travaux qui se sont succédé, en effet, depuis quelques années et concluent à l'unicité des diphtéries, humaine et aviaire, ont apporté, comme preuve la plus certaine de leurs affirmations, la présence, chez les oiseaux atteints, de bacilles morphologiquement semblables à *Corynebacterium diphteriae*.

Or, comme le fait très justement remarquer Forgeot (2), c'est là un critérium des moins sûrs. Et il suffit que, désormais, l'attention soit attirée sur la présence possible de bacilles de Preisz-Nocard, au sein des lésions diphtéroïdes des volailles pour qu'on s'entoure, avant d'affirmer l'identité, de toutes les

(1) GRAHAM SMITH. *Journal of agriculture science*, 2, p. 227.

(2) FORGEOT. *Bull. de la Soc. centrale de méd. vétérinaire*, 1922, p. 531.

preuves bactériologiques nécessaires à la discrimination des deux types microbiens.

Nous sommes intimement persuadés qu'on a, en quelques cas, rapporté au bacille de la diphtérie humaine ce qui était le fait du bacille de Preisz-Nocard. Et la présence de « diphtérimorphes » existant, ainsi que nous avons pu le reconnaître, au sein des néoformations buccales ou pharyngées des oiseaux atteints de diphtérie vient encore compliquer un problème déjà fort troublant.

Est-ce à dire qu'il soit impossible de différencier ces agents qui, ainsi que l'écrit Forgeot, simulent morphologiquement le bacille diphtérique?

L'un de nous a montré (1) qu'il est assez facile de séparer le bacille de la diphtérie humaine des germes diphtérimorphes. Ceux-ci sont strictement aérobies et ne se développent point dans la profondeur de la gélose Veillon glucosée; celui-là est aéro-anaérobie et donne dans le milieu de fines colonies d'apparence neigeuse, aisément reconnaissables. Au surplus, les réactions biochimiques et l'épreuve *in vivo* (sur le cobaye) sont de nature à dissiper bien des incertitudes et à parfaire toute identification.

La différenciation entre le bacille de Löffler ou les « diphtérimorphes » d'une part, et le germe de la « suppuration caséuse » d'autre part, offre beaucoup moins de difficultés. Les caractères cultureux, sur milieux ordinaires ou spéciaux, sont loin d'être identiques et permettent toujours la séparation. Toutefois, si quelque doute pouvait subsister en la matière, un complément d'information des plus précieux serait fourni par l'étude des pouvoirs pyogène et toxique.

La neutralisation, au moyen du sérum antidiphtérique, de la toxine sécrétée par le micro-organisme en litige apporterait la preuve irréfutable que le germe de la diphtérie humaine est bien en cause. Cette notion, ainsi présentée, ne comporte peut-être point une rigoureuse exactitude. On sait, depuis longtemps, que le sérum antidiphtérique jouit d'une certaine action préventive à l'égard de la toxine du bacille de Preisz-Nocard (2). Nous-mêmes l'avons vérifiée au cours de nos essais.

(1) AVIRAGNET et M<sup>lle</sup> LE SOUDIER. *Bull. de la Soc. méd. des Hôp.*, 27 juillet 1917.

(2) DASSONVILLE. *Bull. de la Soc. centrale de méd. vétérinaire*, 1907, p. 576.

Ce qu'il faut retenir de cette discussion rapide, c'est que la flore bactérienne des diphtéries aviaires pseudo-membraneuses doit être très soigneusement examinée. Cette étude pourra seule nous renseigner sur la nature des germes qui pullulent dans les fausses membranes et la présence éventuelle du bacille de Klebs-Löffler au sein de celles-ci. Aujourd'hui, cependant, il demeure certain que ces microbes ne représentent que des organismes d'infection secondaire; la cause efficiente de la plupart des diphtéries aviaires ne réside ni dans *Corynebacterium diphteriæ*, ni dans *Corynebacterium pseudo-tuberculosis ovis* ou quelque autre germe, mais dans un virus filtrant, invisible et non encore cultivé, ainsi que l'ont signalé nombres d'auteurs.

\*  
\* \*

En résumé, nous avons pu isoler par deux fois, chez des oiseaux atteints de formes variées de la diphtérie, un bacille que tous ses caractères permettent d'identifier au bacille de Preisz-Nocard.

Nous avons apporté la preuve expérimentale que ce germe n'était en rien la cause de l'affection. Nous avons voulu mettre en garde le chercheur contre la confusion qu'il est possible d'établir — par le seul examen bactérioscopique des fausses membranes ou des pus infectés — entre les bacilles de Löffler et de Preisz-Nocard.

Nous espérons ainsi jeter quelque clarté dans la question, obscure encore et toujours à l'étude, de l'unicité des diphtéries, humaine et aviaire.

## CONTRIBUTION A LA THÉORIE DE L'ACTION DES LYSINES DU SÉRUM (1)

par E. POYARKOFF,

Professeur à l'Université d'Asie centrale de Taschkent.

On sait, d'après les recherches de Eisler (1909, *Zeitsc. f. die Imm.*), que l'hémolysine du sérum agit le plus rapidement à une concentration déterminée de sels neutres; la diminution ainsi que l'accroissement de cette concentration déterminent un ralentissement de l'hémolyse. Ce fait est exact; je l'ai vérifié sur la spermotoxine naturelle du sérum de Lapin et sur l'hémolysine du Lapin immunisé avec les globules rouges de Mouton, mais j'ai constaté cependant que la concentration des sels neutres par laquelle l'action des lysines atteint son maximum et que j'appellerai concentration ou point critique, peut facilement être déterminée avec une précision beaucoup plus grande que ne l'a fait Eisler. Si nous déterminons à présent, en employant différents mélanges de solutions isotoniques de sucre et de divers sels neutres, les concentrations critiques de ces sels, nous trouverons une corrélation remarquable entre les valeurs numériques de leurs points critiques. Les résultats de mes observations sont représentés sur le tableau ci-après; les concentrations critiques sont indiquées en millimolécules.

En examinant ce tableau, on constatera de suite que la position du point critique est fonction de la valence des cathions des sels étudiés: le point oscille entre 33 et 60 millimolécules pour différents métaux univalents; il est au contraire de 2,8-4,7 millimolécules pour les métaux bivalents, excepté le magnésium qui occupe à cet égard, comme sous certains autres rapports, une place intermédiaire entre les métaux alcalins et les métaux alcalino-terreux; en ce qui concerne les sels des

(1) Ce travail a été publié en détail en russe (*Arch. des Sciences vétérinaires*, Pétrograd) en 1918. En raison des circonstances, il a passé malheureusement inaperçu. Un extrait de la présente note a paru dans les *Comptes rendus* (février 1924, p. 128).



métaux trivalents, leur point critique est situé très bas, entre 0,16-0,27 millimolécules. Quant à l'anion, il n'a pas grand rôle dans le cas dont il s'agit.

SELS	CONCENTRATIONS CRITIQUES DES SELS		CONCENTRATIONS MINIMA DES SELS NÉCESSAIRES	
	la spermotoxine	pour l'hémolyse	pour la coagulation de $As_2S_3$ (FREUNDLICH)	pour l'agglutination des bactéries de la fièvre typhoïde (BECHHOLD)
NaCl. . . . .	60	36	51	25
NaNO <sup>3</sup> . . . . .	60	—	50 (KNO <sup>3</sup> )	25
KCl. . . . .	60	—	49,5	—
Acét. de Na. . . .	43	—	110 (K)	—
NaBr. . . . .	50	—	—	—
NaI. . . . .	40	—	—	—
Na <sup>2</sup> SO <sup>4</sup> . . . . .	28	—	37,8 (K)	27,52
Citr. de Na. . . .	11	—	> 240	—
MgCl <sup>2</sup> . . . . .	23	—	0,717	—
MgSO <sup>4</sup> . . . . .	21	—	0,810	1,3
CaCl <sup>2</sup> . . . . .	4,7	2,8	0,649	2,3
SrCl <sup>2</sup> . . . . .	4,5	—	0,635	—
BaCl <sup>2</sup> . . . . .	4,7	—	0,691	2,52
AlCl <sup>3</sup> . . . . .	0,27	—	0,093	—
Al <sup>3</sup> (SO <sup>4</sup> ) <sup>3</sup> . . . . .	0,08	—	0,095 (NO <sup>3</sup> )	0,01
HCl. . . . .	1,0	—	30,8	1,0

On sait d'autre part que la faculté des sels neutres de faire coaguler les substances colloïdes lyophobes dépend surtout de la valence de leur cation ou de leur anion selon que l'on a affaire aux substances chargées négativement ou positivement (règle de Schultze). Si l'on compare sur le tableau indiqué les points critiques, que j'ai trouvés pour la spermotoxine et l'hémolyse, aux concentrations relatives à la coagulation du trisulfure d'arsenic, on est frappé par le très grand degré de coïncidence de ces chiffres. Cette coïncidence remarquable ne peut être attribuée à un hasard; nous avons évidemment, dans ce cas-là, affaire aussi à la règle de Schultze, quoique sous une forme modifiée.

Ce qui est très important à noter, tout d'abord, c'est qu'il y a tout lieu de croire que la règle de Schultze représente un trait général commun à tous les processus de l'immunité, éminem-

ment caractéristique de leur mécanisme intime. Bechhold (1905) a démontré la règle de Schultze pour le processus d'agglutination; j'ai retrouvé cette règle sur l'hémolysine et la spermotoxine. On doit retrouver cette même règle pour divers autres processus de l'immunité, tels que précipitation biologique, neutralisation des toxines par les antitoxines, etc.; dans le cas contraire, on sera obligé de diviser le domaine si uniforme de l'immunité en deux grandes classes: l'une obéissant, l'autre désobéissant à la règle de Schultze.

Le fait que la règle de Schultze est applicable aux processus d'hémolyse ou de spermolyse nous montre aussi clairement que possible qu'il s'agit là de *processus de coagulation*. Ce fait, soupçonné et supposé par nombre d'auteurs, acquiert à présent une évidence réelle. La spermotoxine, en se fixant sur les spermatozoïdes, forme avec l'une des substances de leur paroi externe une combinaison à caractère lyophobe, qui se coagule ensuite sous l'action des sels du milieu ambiant; les spermatozoïdes sont alors tués. Un même processus de coagulation se produit sous l'action de l'hémolysine dans la paroi externe de l'érythrocyte en déterminant une désagrégation de cette paroi, l'hémoglobine diffuse au dehors et l'on dit que le globule rouge se dissout; en réalité, c'est une coagulation qui se produit ici et le nom d'hémolysine est assez mal choisi. La spermotoxine et l'hémolysine sont des corps d'une même espèce, et l'on ne doit pas appeler l'un d'eux toxine, l'autre lysine.

Ce mécanisme de coagulation doit être commun à tous les processus de l'immunité. L'organisme, en luttant contre différents corps étrangers introduits à son intérieur (bactéries, toxines, globules rouges, etc.), les fait coaguler en les mettant ainsi hors d'état de nuire. Nos procédés de stérilisation ou de désinfection (autoclave, sublimé, etc.) reposent en somme sur le même principe.

Si donc l'action des anticorps consiste dans la formation avec l'antigène d'une combinaison lyophobe, comment cela se passe-t-il? Les substances albuminoïdes dont sont constitués les organismes vivants sont en général des corps lyophiles, non lyophobes. La grande sensibilité de l'alexine à l'action des sels des métaux bi- et trivalents fait supposer que l'alexine est une substance colloïde lyophobe (lipoïde comme le pensent certains



auteurs; la cholestérine a par exemple les caractères d'un corps lyphobe) qui ne reste en solution dans le sérum ou le plasma que grâce à l'action protectrice de certaines substances du plasma; lorsque l'alexine entre en combinaison avec l'antigène, ses caractères lyphobes se révèlent et se communiquent à la nouvelle combinaison formée qui se coagule ensuite sous l'action des électrolytes du milieu. L'organisme procède d'une façon économe; il se borne à transformer l'antigène en un corps lyphobe en laissant aux sels du plasma sanguin le travail de sa coagulation.

D'après la règle de Hardy, la combinaison de l'anticorps avec l'antigène doit être un corps chargé négativement, car la règle de Hardy dit que les substances colloïdes chargées négativement se coagulent sous l'action des cathions, et ceux qui sont chargés positivement se coagulent sous l'action des anions. L'alexine, sensible à l'action des cathions, doit porter une charge négative. J'ai constaté d'autre part que la fixation de la sensibilisatrice est ralentie par les anions et non pas par les cathions. On sait en outre que les bactéries, les globules rouges, les spermatozoïdes, etc. portent une charge négative. On est très tenté de se faire l'idée suivante du mode d'action des anticorps. L'antigène, chargé négativement, attire la sensibilisatrice chargée positivement; l'antigène sensibilisé fixe ensuite l'alexine qui est chargée négativement; il en résulte la formation d'une combinaison lyphobe qui se coagule sous l'action des sels du plasma sanguin; mais j'hésite encore à formuler cette hypothèse d'une façon définitive; il est nécessaire de faire des recherches spéciales à cet égard.

Quant à la signification même du point critique, je suis incliné à le concevoir comme résultant de l'intersection de deux courbes se rapportant à deux processus différents. L'un de ces processus consiste dans la fixation de l'alexine par le globule rouge ou le spermatozoïde sensibilisé; ce processus se ralentit à mesure qu'on augmente la concentration des sels neutres; certaines observations me conduisent à le penser; on sait d'autre part que les concentrations élevées de chlorure de sodium exercent sur l'alexine une action conservatrice. Le second processus consiste dans la coagulation de la combinaison formée par l'anticorps avec l'antigène; cette coagulation est au

contraire accélérée si l'on augmente la concentration des sels. La concentration critique représente le point où les deux processus marchent assez vite.

La position du point critique paraît aussi dépendre de la nature de l'alexine; elle peut donc servir à distinguer les alexines et à en établir une classification précise.

Différentes conditions physiologiques ou pathologiques paraissent également déterminer des variations du point critique. L'étude des variations du point critique peut nous renseigner sur la physiologie du processus de l'immunisation et servir de base aux nouvelles méthodes diagnostiques.

*Le Gérant : G. MASSON.*